Sz

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rachmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfunfünfzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.

LEESMUSEUM
M

QP501
.B58
v. 55

CHEMISTRY LIBRARY

CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL
Does Not Circulate

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfundfünfzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.

M

LEESMUSEUM AMSTERDAM.

351321
QP501
.B58
v.55

INDIANA UNIVERSITY
LIBRARY

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Mayer, Paul. Fortgesetzte Untersuchungen über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper. III. 1

Schewket, Omer. Über einen einfachen Nachweis der Glucuronsäure im diabetischen Harn 4

Wohlgemuth, J. und **B. Rewald.** Über das Verhalten von Jodeiweiß im Organismus 7

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XIX. 13

Masslow, M. Über die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus. I. 45

Zaleski, W. und **W. Schataloff.** Beiträge zur Kenntnis der Eiweißumwandlung in der Hefe. I. 63

Zaleski, W. und **W. Shatkin.** Untersuchungen über den Eiweißaufbau in den Pflanzen. I. 72

Karczag, L. und **L. Mócsár.** Über die Vergärung der Brenztraubensäure durch Bakterien. I. 79

Fasal, H. Über den Tryptophangehalt normaler und pathologischer Hautgebilde und maligner Tumoren 88

Kauders, Felix. Über den Cholesterinestergehalt des Blutes verschiedener Tiere 96

Rumpf, Friedrich. Über den Einfluß der Lipoide auf die Gerinnung des Blutes 101

Diakow, M. Zur Methode der Verbrennungscalorimetrie und der Elementaranalyse mit Hilfe der calorimetrischen Bombe 116

Dienes, Ludwig. Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels in der Schwangerschaft und der Lactation 124

Oppenheimer, Ernst. Zur Frage der Fixation der Digitaliskörper im tierischen Organismus und besonders deren Verhalten zum Blut. 134

Elias, Herbert. Über die Kohlensäurebildung im überlebenden blutdurchströmten Muskel 153

Kirsche, Arno. Beiträge zur Frage der lipoiden Organhämolysine und ihrer Beeinflussung durch Traubenzuckerfütterung 169

Gigon, Alfred und **Max Massini.** Muskulatur und Glykolyse 189

von der Heide, R. und **W. Klein.** Stoff- und Energieumsatz des Schweines bei Wachstum und Mast 195

Lomholt, Svend und **J. A. Christiansen.** Bestimmung kleiner Mengen Quecksilber in organischer Substanz 216

Saxl, Paul. Über die Störungen im Eiweißstoffwechsel Krebskranker. (Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Rhodanausscheidung.) . 224

Bywaters, H. W. Die Assimilation des im Ei enthaltenen Eiweißes durch den Hühnchenembryo 245

Salkowski, E. Über die Fällung der Purinbasen durch Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn 254

Welter, B. Beiträge zur Kenntnis der Chemie der Krebstumoren . 260

Seite

Thorsch, Grete. Über die Einwirkung des Alkohols auf die antigenen Gruppen der roten Blutkörperchen 266

Renall, Montague H. Über den stickstoffhaltigen Bestandteil des Kephalins 296

Embden, Gustav und **Karl Baldes.** Über den Abbau des Phenylalanins im tierischen Organismus 301

Griesbach, W. und **S. Oppenheimer.** Über Milchsäurebildung im Blute. V. 323

Embden, Gustav und **Max Oppenheimer.** Über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper. II. 335

Zuntz, N. Einfluß chronischer Unterernährung auf den Stoffwechsel 341

Lesser, Ernst J., Die Beeinflussung der endozellularen Wirksamkeit der Leberdiastase durch Pankreasexstirpation. I. 355

Halle, W., E. Loewenstein und **E. Přibram.** Bemerkungen über Farbreaktionen des Triketohydrindenhydrats (Ninhydrin) 357

Schirokich, P. Beitrag zur Bedeutung der Pentosen als Energiequelle im tierischen Organismus 370

Fasal, Hugo. Studien über Pigment 393

Costantino, A., II. Der durch Formol titrierbare Aminosäurestickstoff in den Blutkörperchen und im Serum des Blutes von hungernden und ernährten Tieren 402

Costantino, A., III. Die Permeabilität der Blutkörperchen für Aminosäuren 411

Costantino, A., Methodik der Extraktion von Aminosäuren aus den verschiedenen Bestandteilen des Blutes 419

Friedmann, E. und **W. Türk,** Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XV. 424

Friedmann, E. und **W. Türk.** Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XVI. 432

Friedmann, E. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XVII. 436

Mochizuki, Junichi. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XVIII. 443

Mochizuki, Junichi. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XIX. 446

Friedmann, E. und **C. Maase.** Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XX. 450

von Lagermark, L. Über die Verbreitung der Ketoreduktase in den Geweben 458

Friedmann, E. und **W. Türk.** Weitere Versuche über den Abbau des Naphthalinkernes im Tierkörper 463

Türk, W. Über β-Naphthalanin-hydantoinsäure 477

Kotschneff, Nina. Zur Frage nach der Rolle der Fermente im tierischen Organismus bei Einführung getöteter Tuberkelbazillen . 481

Neuberg, C. und **W. Gertel.** Studien über Methylglyoxalbildung . . 495

Autorenverzeichnis 504

Fortgesetzte Untersuchungen über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper.

III. Mitteilung.

Zur Frage der Bildung von Zucker und Milchsäuren aus Brenztraubensäure.

Von

Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 22. Juli 1913.)

Nachdem ich in einer früheren Arbeit[1]) festgestellt hatte, daß Zufuhr von Brenztraubensäure bei Kaninchen und Hunden zu einer Glucosurie führt, die durch eine Hyperglykämie bedingt ist, habe ich in einer zweiten Abhandlung[2]) die wichtige Frage erörtert, ob Brenztraubensäure im Organismus Zucker bilden könne. Versuche, die ich an Kaninchen und Hunden mit Phlorizinglucosurie angestellt hatte, hatten zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. In geeigneter Dosis verabfolgt, bewirkt die Brenztraubensäure bei Kaninchen und Hunden mit totalem Phlorizindiabetes eine schwere Schädigung der Nieren, so daß das Nierenfilter für Zucker und stickstoffhaltige Derivate mehr oder minder gedichtet wird und infolgedessen die Zucker- und Stickstoffausscheidung beträchtlich absinkt.

2. Auch in denjenigen Fällen, wo das Eliminationsvermögen der Nieren nicht erkennbar beeinträchtigt wird, bewirkt die Brenztraubensäure, in genügend großer Menge zugeführt, beim Phlorizintier keine Ausscheidung von Extrazucker.

Ich habe dann ausgeführt, daß trotz dieser negativen Ergebnisse keineswegs die Schlußfolgerung gerechtfertigt ist, daß die Brenztraubensäure kein Zuckerbildner ist, und ich habe dargelegt, aus welchen Gründen mir der Phlorizinversuch zur Entscheidung dieser und analoger Fragen durchaus ungeeignet erscheint.

[1]) P. Mayer, diese Zeitschr. 40, 441, 1912.

[2]) P. Mayer, diese Zeitschr. 49, 486, 1913.

In zwei jüngst erschienenen Mitteilungen berichten die Herren A. J. Ringer[1]) sowie H. D. Dakin und N. W. Janney[2]) über ähnliche Versuche. Beide Autoren behaupten, im Gegensatz zu meinen Resultaten niemals eine Abnahme der Zucker- und N-Ausscheidung, sondern im Gegenteil eine wenn auch relativ unbedeutende Bildung von Extrazucker beobachtet zu haben.

Ringer meint nun, den Unterschied zwischen meinen und seinen Befunden auf einen Gehalt meiner Brenztraubensäure an Weinsäure (!) zurückführen zu sollen. Allein diese Annahme schwebt völlig in der Luft. Ich habe ebenso wie Ringer Kahlbaumsche Brenztraubensäure zu verschiedenen Zeiten bezogen. Abgesehen davon, daß Weinsäure — im Gegensatz zu Ringers Annahme — überhaupt nicht destillierbar ist, sich also nicht in der Brenztraubensäure vorfinden kann, habe ich diese Säure wiederholt auf Reinheit geprüft. Sie gab mit p-Nitrophenylhydrazinacetat nahezu die theoretische Menge des typischen Hydrazons und war optisch-inaktiv; auch läßt sich kein schwerlösliches Ka-Salz, wie es für die Weinsäure charakteristisch ist, daraus herstellen[3]).

Wenn also die amerikanischen Autoren grundlos die Reinheit meines Ausgangsmaterials verdächtigen, so dürfte eher das umgekehrte Verhältnis obwalten.

Denn es ist bekannt, daß bei einfacher Neutralisation der Brenztraubensäure, wie sie zur Darstellung von Salzen aus freien Säuren üblich ist, weitgehende Veränderungen der empfindlichen Brenztraubensäure zu Substanzen mit 6 Kohlenstoffatomen und Derivaten solcher stattfinden. Ich selbst habe diesem Verhältnisse stets Rechnung getragen[4]) und auf ihre Bedeutung hingewiesen, während in den vielen Arbeiten anderer über Verabfolgung von Brenztraubensäure nirgendwo davon die Rede ist. Ich empfehle daher zur Aufklärung der Differenz Versuche darüber, ob und wieviel Brenztraubensäure in den verwendeten Lösungen von brenztraubensauren Salzen noch vorgelegen hat.

Meine älteren[5]) ausdrücklich hervorgehobenen Befunde von Milchsäure im Urin der mit Brenztraubensäure be-

[1]) Journ. of Biolog. Chem. **15**, 145, 1913.

[2]) Journ. of Biolog. Chem. **15**, 177, 1913.

[3]) Beim Erhitzen mit Kalilauge in konzentrierter Lösung und nachherigen Zusatz von Eisessig entsteht allmählich ein Niederschlag. Dabei handelt es sich um Kaliumoxalat, entsprechend der bekannten Zersetzung der Brenztraubensäure beim Kochen mit Alkalien.

[4]) Diese Zeitschr. **49**, 489, 1913.

[5]) Diese Zeitschr. **40**, 444, 1911.

handelten Tiere sprechen auch gegen die etwas simple Annahme Dakins (l. c.), daß in meinen Versuchen die Bedingungen für eine Reduktion von Brenztraubensäure zu Milchsäure nicht günstig gewesen seien. Diese Reduktion soll aber nach den Ansichten der Autoren für die Zuckerbildung die nötige Zwischenstufe bilden. Es ist nicht recht einleuchtend, daß zur Glykogenie auch in jenen Fällen nicht genug Milchsäure zur Verfügung gestanden haben solle, wo sie sogar überschüssig im Harn erschienen ist. Im übrigen habe ich[1]) denselben, jetzt von Dakin und Janney ausgesprochenen Gedanken, daß beim Phlorizinversuche gelegentlich die Reduktion der Brenztraubensäure unterbleiben könne, längst vor ihnen erörtert!

Obgleich nach neueren Anschauungen[2]) d- wie l-Milchsäure in gleicher Weise als Zuckerbildner fungieren sollen, möchte ich noch hervorheben, daß ich inzwischen meine früheren Befunde von Milchsäure im Urin mit Brenztraubensäure gefütterter Tiere ergänzt habe.

In der damals von mir beschriebenen Weise wurde der Urin mit Äther extrahiert. Der Rückstand des Ätherauszugs wurde in die Zinksalze übergeführt. Nach Filtration vom zuerst ausfallenden d, l-Zinklactat wurde auf Alkoholzusatz eine zweite Krystallisation erhalten. Diese Krystalle wurden abgesaugt und zweimal aus heißem Wasser umgelöst. Auf diese Weise erhielt ich ein Salz, das ziemlich reines d-Lactat war. Es enthielt 13,11% H_2O, und die entwässerte Verbindung gab 33,74% ZnO; die Substanz wies die Drehung $[\alpha]_D = -7{,}38^0$ auf.

Im Urin von Brenztraubensäure-Tieren kommt also neben inaktiver auch aktive Milchsäure vor.

Welches die Gründe für die divergierenden Ergebnisse bezüglich der direkten Bildung von Traubenzucker aus Brenztraubensäure auch sein mögen, eine Beweiskraft vermag ich den Angaben der amerikanischen Forscher nicht zuzumessen, um so weniger, als ich jedes Eingehen auf meine Kritik des Phlorizinversuchs vermisse.

[1]) P. Mayer, diese Zeitschr. **49**, 500, 1913. — Herrn Ringer möchte ich noch darauf aufmerksam machen, daß die von ihm (l. c.) jetzt vorgesehenen Versuche mit der Oxalessigsäure von mir früher (l. c.) ausdrücklich angekündigt und in bestimmter Richtung (diese Zeitschr. **50**, 283, 1912) auch schon ausgeführt sind!

[2]) Vgl. C. Neuberg, „Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle", Monogr. bei G. Fischer, Jena, **1913**, S. 24.

Über einen einfachen Nachweis der Glucuronsäure im diabetischen Harn.

Von

Omer Schewket (Türkei).

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juli 1913.)

Während der eindeutige Nachweis kleinster Mengen Glucuronsäure im Harn früher besondere Schwierigkeiten bereitet hat, gelingt es mit dem von Neuberg und mir beschriebenen Verfahren[1]) mit großer Leichtigkeit, schon in 10 ccm Urin bzw. noch weniger die genannte Substanz sicher nachzuweisen. Das Verfahren von Neuberg und Schewket gründet sich auf den Umstand, daß die Glucuronsäure im Harn primär in Form gepaarter Glucuronsäuren vorkommt, die aus wässeriger Lösung mit alkoholhaltigem Äther ausgeschüttelt werden können.

Die Arbeitsweise besteht darin, daß 10 ccm Harn mit etwa 2 ccm verdünnter Schwefelsäure oder Phosphorsäure bis zur deutlich sauren Reaktion versetzt werden. Man gibt alsdann 10 ccm gewöhnlichen Alkohol und 20 ccm Äther hinzu und schüttelt kräftig um. Beim Stehen oder auf Zusatz von einigen Kubikzentimetern gesättigter Kochsalzlösung hebt sich die Ätherschicht gut ab. Man läßt alsdann die wässerig-alkoholische Zone ab und schüttelt die Ätherschicht mit 2 bis 3 ccm Wasser oder starker Kochsalzlösung durch. Nach erfolgter Sonderung der Schichten trennt man im Scheidetrichter und filtriert die ätherische Lösung durch ein kleines trockenes Filter in eine Porzellanschale. Man vertreibt alsdann den Äther auf dem Wasserbade nach vorheriger Zugabe von 5 ccm Wasser. Den wässerigen

[1]) C. Neuberg und O. Schewket, diese Zeitschr. **44**, 502, 1912.

Rückstand prüft man ohne Rücksicht auf etwaige Trübungen in der früher angegebenen Weise mittels der Orcin- und Naphtoresorcinprobe.

Es war von vornherein kaum zweifelhaft, daß sich dieses überaus einfache Verfahren auch bei zuckerhaltigen Harnen würde anwenden lassen, wo sonst das gemeinsame Vorkommen von Zucker und Glucuronsäure den Nachweis der letzteren umständlich macht.

So empfiehlt neuerdings A. Jolles[1]), 200 bis 400 ccm Urin mit Bleiacetat auszufällen, den abgesetzten Niederschlag abzufiltrieren, die Fällung selbst aber 3 bis 4mal mit je 400 ccm Wasser zu dekantieren. Das erste Filtrat wird alsdann mit Bleiessig ausgefällt und der entstandene Niederschlag 3 bis 4 mal ausgewaschen. Der Bleiacetat- und Bleisubacetatniederschlag werden sodann vereinigt und nach dem Verrühren mit Wasser bei 60 bis 70° mit Schwefelwasserstoff nunmehr bis zur völligen Zerlegung der Bleisalze behandelt. Das Filtrat vom Bleisulfid endlich wird eingeengt und dient zur Anstellung der Naphtoresorcinprobe.

Zu diesem an sich wohl meist brauchbaren Verfahren von Jolles muß folgendes bemerkt werden:

1. Bekanntlich werden durchaus nicht alle gepaarten Glucuronsäuren durch Bleizucker und Bleiessig niedergeschlagen, sondern erst durch Bleiessig plus Ammoniak ausgefällt.

2. Das Jollessche Verfahren ist weit umständlicher und zeitraubender als die von mir mit Neuberg angegebene Arbeitsweise.

3. Während man bei letzterer 10 ccm Harn benötigt, oft sogar mit der Hälfte auskommt, verwendet Jolles die 20 bis 40fache Urinmenge (200 bis 400 ccm).

4. Da durch normales, namentlich durch basisches Bleiacetat in Flüssigkeiten physiologischer Provenienz, insbesondere im Harn, Substanzen der Pentosengruppe niedergeschlagen werden können, so muß man sich bei der Arbeitsweise von Jolles des wichtigen Vorteils begeben, das Ergebnis der Naphtoresorcinreaktion mittels der Orcinprobe zu kontrollieren.[2])

In allen den erwähnten Punkten ist das Ausschüttelungsverfahren mit alkoholhaltigem Äther überlegen. Mit seiner

[1]) A. Jolles, Zeitschr. f. physiol. Chem. 81, 204, 1912.

[2]) Denn die Naphtoresorcinprobe allein ist vieldeutig wie die Pentosenproben. Von ätherlöslichen Substanzen, welche beide Reaktionen geben, dürften in der Natur bisher nur die gepaarten Glucuronsäuren aufgefunden sein.

Hilfe habe ich in zuckerhaltigen Harnen von 0,2%, 0,4%, 1,0%, 1,9% und 3,1% Glucose unter Verwendung von 10 ccm dieser Urine in einfacher Weise die Glucuronsäure nachweisen können.

In manchen Fällen habe ich schon im Ätherauszug von 5 ccm Zuckerharn kräftige Glucuronsäurereaktion bekommen in Übereinstimmung mit der von Paul Mayer[1]) mitgeteilten Erfahrung, daß Diabetiker öfter eine verstärkte Glucuronsäureausscheidung aufweisen.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß das Verfahren mit der Ätherextraktion bei beliebigen Kohlenhydraturien, auch bei Pentosurie, anwendbar ist. Selbstverständlich muß der Urin in möglichst frischem Zustande untersucht werden, da beim Stehen eine Spaltung gepaarter Glucuronsäure eintreten kann und freie Glucuronsäure nicht mehr in alkoholhaltigen Äther übergeht. Bei solchen Harnen dürfte die Methodik von Jolles sicherlich die beste sein.

Wenn frischer Harn eine auffallend schwache Glucuronsäurereaktion beim Ätherextraktionsverfahren liefert, eine sehr starke dagegen bei direkter Prüfung des Urins bzw. bei Verarbeitung seiner Bleifällungen, so wird man an eine Zersetzung des Harns in der Blase oder an ein Vorkommen von Körpern denken müssen, die nichts mit gepaarter Glucuronsäure zu tun haben, aber eine kräftige Naphtoresorcinreaktion liefern[2]).

---

[1]) Paul Mayer, s. bei C. Neuberg, „Der Harn", Handbuch, S. 444.

[2]) C. Neuberg und J. A. Mandel, diese Zeitschr. **13**, 148, 1908; ferner C. Neuberg, „Der Harn", Handb., S. 434 bis 436.

Über das Verhalten von Jodeiweiß im Organismus.

Von

J. Wohlgemuth und B. Rewald.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts, Berlin.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

In der Jodtherapie spielen außer den Jodfetten auch die Jodeiweißkörper eine erhebliche Rolle. Nun haben aber die bisher bekannten und in Anwendung gekommenen tierischen Eiweißkörper nur eine begrenzte Fähigkeit, Jod aufzunehmen[1]).

So finden wir, daß z. B. Jodalbacid ca. 10% intramolekular gebundenes Jod enthält; Jodglidine, ein Pflanzeneiweißpräparat, weist denselben Jodgehalt auf usw. Unseres Wissens aber sind die verschiedenen drüsigen Organe und auch das Gesamtblut noch nicht auf ihr Jodbindungsvermögen untersucht worden.

Es war deshalb sowohl von theoretischem wie von praktischem Interesse festzustellen, ob nicht andere als die bisher zur Anwendung gelangten Eiweißkörper ein ebenso starkes oder gar stärkeres Bindungsvermögen für Jod besitzen. Im Laufe unserer Untersuchung mit tierischen Eiweißkörpern verschiedener Provenienz haben wir die Beobachtung gemacht, daß besonders das Blut und seine Eiweißkörper ein relativ recht hohes Bindungsvermögen für Jod besitzen. Wenn man Blut in geeigneter Weise mit Jod behandelt, so erhält man ein Trockenpräparat, das 14 bis 15% Jod in teils lockerer, teils fester Bindung enthält. Auf keinen Fall jedoch ist darin das Jod direkt mit Chloroform, Schwefelkohlenstoff oder anderen Mitteln nach-

[1]) Nach einer Zusammenstellung von Samuely ist die durchschnittliche Jodaufnahme tierischer Eiweißkörper 8,95% im Maximum. (Biochem. Handlex. 4, 70, 1911.)

weisbar, es muß erst zu seinem Nachweise auf geeignete Weise in Freiheit gesetzt werden. Andere Eiweißkörper, wie beispielsweise das Nieren-, Leber- oder Milzeiweiß, besitzen kein so hohes Bindungsvermögen. Wir sind damit beschäftigt, dieser Beobachtung noch weiter nachzugehen und die quantitativen Verhältnisse des Jodbindungsvermögens der einzelnen Eiweißkörper zu ermitteln, zumal sich gezeigt hat, daß die Jodbindung in naher Beziehung zum Reduktionsvermögen der Eiweißkörper steht. Hierüber soll später ausführlich berichtet werden.

Die Darstellung des jodierten Eiweißkörpers geschieht in einfachster Weise, indem defibriniertes Rinder- oder Schweineblut unter Zusatz von wenig Essigsäure koaguliert wird. Hierzu wird, damit das nachherige Filtrieren und Abpressen erleichtert wird, ungefähr das 2 bis 3fache des ursprünglichen Volumens an Wasser zugesetzt. Nach dem Absetzen des Koagulums wird die überstehende wässerige, fast farblose Flüssigkeit abgegossen, der Rückstand durch Pressen in Tüchern von der Hauptmenge der Flüssigkeit befreit und dann im Mörser fein zerrieben unter Zusatz von 10%iger alkoholischer Jodlösung. Zu Anfang geschieht die Jodaufnahme fast momentan, später langsamer, was durch den jeweiligen Ausfall der Chloroformprobe mit Leichtigkeit kontrolliert werden kann. Nachdem man die berechnete Menge Jod zugefügt — ca. 17 bis 18% — (man bestimmt zu dem Zweck erst in einer kleinen Vorprobe den Wassergehalt des feuchten Blutbreies), trocknet man das schon durch den Alkoholzusatz staubfeine Pulver vollkommen auf dem Wasserbad, wobei das überschüssige Jod sich verflüchtigt. Man erhält so ein ziemlich dunkles, lockeres Pulver, das keine Spur mehr ungebundenes Jod aufweist, fast geschmacklos ist und ohne Widerwillen auch selbst von Kindern gern genommen wird. Es ist in Wasser unlöslich, löslich in Alkalien. Mit Pepsin und Salzsäure zeigt es auch nach wochenlanger Verdauung keine Abspaltung freien Jods, wahrscheinlich entstehen hierbei jodierte Abbauprodukte (Albumosen). Das Präparat enthält also seiner Darstellung nach sämtliche Eiweißkörper des Blutes, mit Ausnahme des Fibrins, und ebenso auch den Gesamteisengehalt des Hämoglobins. Die Zusammensetzung der Substanz ist: Eiweißsubstanz 81,48%, J = 15,24%, Fe = 0,25%. Ob dieses noch vollkommen in seiner ursprünglichen Bindung sich befindet oder ob das Eisen zum Teil abgespalten ist, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen. Sicher ist der größte Teil des Jods fest an das Eiweiß gebunden, und nur ein kleinerer Prozentsatz ist in lockerer Bindungsform vorhanden.

Die Vereinigung von Jod mit einem Eiweißpräparat, das außerdem in natürlicher Bindung noch Eisen enthält, schien uns in therapeutischer Hinsicht besonders wertvoll, zumal man in der Praxis vielfach Gelegenheit hat, Jod an Patienten zu verordnen, die sich gleichzeitig in einem starken anämischen

Zustand befinden. Bevor aber der Körper beim Menschen zur Anwendung gelangte, war es von Wichtigkeit, sich zu orientieren, wie sich der tierische Organismus diesem Präparate gegenüber verhält. Zu unseren Versuchen benutzten wir das Präparat Testijodyl, das vom chem. Institut Dr. L. Oestreicher, Berlin, hergestellt wird.

Da Bluteiweiß als solches in ausgezeichneter Weise vom tierischen Organismus ausgenutzt wird, wie aus den interessanten Untersuchungen von Salkowski[1]) hervorgeht, konnten wir schon a priori darauf rechnen, daß das jodierte Bluteiweiß ebenso gut resorbiert werden würde.

Zu unseren Versuchen verwandten wir sowohl Kaninchen wie Hunde, und auch an Menschen wurden einige orientierende Versuche ausgeführt. Bei den Untersuchungen am Hund begnügten wir uns damit, festzustellen, ob von dem verabfolgten Jodeiweiß etwas in den Faeces erscheint und wie sich die Ausscheidungskurve des Jods durch den Urin gestaltet, bei den Kaninchen hingegen suchten wir außer diesen beiden Gesichtspunkten gleichzeitig auch die Frage zu entscheiden, ob das mit dem Jodeiweiß zusammen verabfolgte Eisen einen nennenswerten Einfluß auf den Eisenbestand des Tieres hat.

Wir lassen nunmehr die Versuchsprotokolle folgen.

Kaninchenversuche.

a) Kaninchen, grau, 2150 g, erhält bei Rübenfütterung 10 Tage hintereinander 1 g des Jodeisenblutpräparates in feingepulverter Form. Die Fütterung geschieht täglich, bevor die Tagesfütterung erfolgt. Das Tier zeigte nicht das geringste abnormale Verhalten. Es beginnt gleich nach der Verabfolgung das ihm dargebotene Futter zu fressen und behält seine Freßlust unverändert während des ganzen Versuches bei. Harn und Kot werden vollständig gesammelt. 48 Stunden nach der letzten Fütterung wird das Tier durch Entbluten getötet. Das Tier hat innerhalb 10 Tagen ca. 1,5 g Jod und 25 mg Eisen erhalten.

1. Harn. Gesamtmenge 2150 ccm. 100 ccm Harn wurden im Nickeltiegel eingedampft, unter Zusatz von festem Kaliumhydroxyd, dann vorsichtig verkohlt und nach Zugabe von Natriumnitrat geschmolzen. In der filtrierten wasserklaren Schmelze wurde der Jodgehalt colorimetrisch nach Anten[2]) bestimmt. Es wurden in 100 ccm Harn 0,04884 g Jod gefunden. Der Gesamtharn enthält also 1,050 g

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 260, 1901.

[2]) Siehe Neuberg, Der Harn, Teil I, S. 811, 1911.

Jod. Demnach sind von dem verabfolgten Jod ca. 70% wieder ausgeschieden worden.

2. Kot. Die Gesamtmenge des Trockenkotes betrug 31,8 g. 10 g davon wurden fein zerrieben, 8 g Kaliumhydroxyd zugesetzt und weitere 30 g Wasser hinzugefügt. Durch längeres Erhitzen auf dem Wasserbad trat vollkommene Verflüssigung ein. Dann wurde geschmolzen und weiter wie sub 1. verfahren. Die graue Schmelze war nach der Aufnahme des Wassers und Filtrieren vollkommen hell. Die Reaktion auf Jod fiel vollkommen negativ aus.

3. Leber. Die Jodreaktion auf die Leber fiel gleichfalls negativ aus. Der Rest der Leber wurde in einem Jenenser Rundkolben zwecks Untersuchung auf seinen Eisengehalt mittels des Neumannschen Veraschungsgemisches verascht. Die verdampfte Salpetersäure wurde nach dem jeweiligen Verschwinden der braunroten Dämpfe so oft erneuert, bis keine nennenswerte NO_2-Entwicklung mehr eintrat. Zum Schluß wurde noch zweimal destilliertes Wasser hinzugefügt und abgedampft. Die stark saure Lösung wurde mit kaustischem Ammoniak neutralisiert, schwach alkalisch gemacht und zum Schluß wieder etwas angesäuert. Dann wurde auf 200 ccm aufgefüllt und das Eisen jodometrisch in bekannter Weise bestimmt.

In Portion a ergab sich für 4,012 g Leber 1,21 mg Eisen, in Portion b für 3,503 g Leber 1,01 mg Eisen; im Mittel also für 3,757 g Leber ein Eisengehalt von 1,11 mg. Hieraus berechnet sich für die ganze Leber ein Gesamtgewicht von 14,19 mg Eisen, oder für 100 g Leber 26,13 mg Eisen. Nach den Untersuchungen von Salkowski[1]) wissen wir aber, daß die normale Kaninchenleber durchschnittlich nur 9 mg Eisen in 100 g Substanz enthält, somit hätte bei diesem Tier unter dem Einfluß des verfütterten Jodeisenblutpräparates Testijodyl der Eisengehalt einen Zuwachs über das Dreifache der Norm erhalten. Es ist demnach die Gesamteisenmenge des Präparates in der Leber gespeichert worden.

b) Weißgraues Kaninchen, 2250 g, erhält gleichfalls 10 Tage hindurch je 1 g des Präparates, im ganzen also ca. 1,5 g Jod. Verhalten normal, Freßlust ungemindert. Am 13. Tage durch Entbluten getötet.

1. Harn. Gesamtmenge 1755 ccm. 100 ccm enthalten 0,0591 g Jod, im Gesamtharn demnach 0,9673 g. Es sind mithin 64,5% wieder ausgeschieden.

2. Kot. Gesamtmenge 38,7 g. 5 g verascht, die Asche auf 50 ccm aufgefüllt; darin waren enthalten 0,0082 g Jod, im Gesamtkot demnach 0,0626 g oder 4,2%.

3. Leber. Eisenbestimmung. 3,921 g enthielten 0,921 mg Eisen. In einer zweiten Portion enthielten 4,032 g Leber 0,983 mg Eisen. Im Mittel also 3,976 g Leber 0,952 mg Eisen, oder 100 g Leber enthalten 25,088 mg Eisen. Auch hier ist die Gesamteisenmenge resorbiert und gespeichert worden.

---

[1]) l. c.

Es ist demnach durch diese Versuche nachgewiesen, daß das Jod vollkommen resorbiert wird und zu ca. 70% nach 48 Stunden wieder ausgeschieden wird. Besonders bemerkenswert ist, daß auch bei der gehäuften Darreichung des Jods das eine Mal überhaupt nichts, das andere Mal nur spurenweise Jod mit den Faeces ausgeschieden wird, und daß während der ganzen Dauer des Versuches die Freßlust eine ungestörte war. Was das Eisen anbetrifft, so hat dasselbe eine außerordentlich große Steigerung in der Leber erfahren, was für die Therapie von besonderem Werte werden dürfte.

Hundeversuche.

a) Hund, 9,5 kg, frißt 3 g des Präparates mit ca. 0,45 g Jod auf einmal. Im Harn erscheint bereits nach $2^1/_2$ Stunden das erste Jod in Spuren. Die Jodausscheidung hält 46 Stunden an. In den gesammelten Faeces ist keine Spur Jod nachweisbar.

b) Hund, 8,2 kg, erhält 5 g Testijodyl auf einmal, das sind ca. 0,75 g Jod. Die Jodausscheidung beginnt 3 Stunden später und ist nach 48 Stunden beendet. Der Kot zeigt eine ganz schwache Jodreaktion.

Auch diese Versuche lehren also, daß das Testijodyl eine vollkommene Resorption zeigt, und daß seine Ausscheidung sich über ca. 2 Tage hinzieht, was für eine gute und gleichmäßige Aufnahme spricht. Auch hier ist es bemerkenswert, daß selbst nach verhältnismäßig großen Gaben die Freßlust unvermindert fortbesteht und ein irgendwie abnormes Verhalten nicht beobachtet werden konnte.

Menschenversuche.

a) Ein normaler gesunder Mann von ca. 30 Jahren nimmt 5 Tabletten Testijodyl = 0,375 g Jod auf einmal. Die Jodausscheidung beginnt nach $3^1/_2$ Stunden und ist nach ca. 40 Stunden beendet. Allgemeinbefinden gut, Appetit nicht im geringsten beeinträchtigt. Bei einem zweiten Versuche werden von derselben Person 10 g, insgesamt also 1,5 g Jod im Verlaufe von ca. 10 Stunden genommen, ohne daß irgendwelche Beschwerden auftraten.

b) Eine andere gesunde Person von ca. 40 Jahren nimmt 10 Tabletten auf einmal, d. h. also 0,75 g Jod, ohne daß irgendeine Beschwerde auftritt. In den Faeces ist keine Spur von Jod nachweisbar, folglich tritt eine glatte Resorption ein. Nach 3 Stunden wurde die erste Ausscheidung im Harn beobachtet. Nach 48 Stunden war kein Jod mehr nachweisbar.

Aus den Versuchen am Tier sowohl wie am Menschen geht hervor, daß das oben beschriebene Jodeisenpräparat Testijodyl gut resorbiert wird und keinerlei Störungen im Befinden hervorruft. Selbst in Quantitäten von 2,5 bis 5 g auf einmal genommen wurde es von normalen Menschen glatt resorbiert.

Die Ausscheidungskurve beim Menschen wie beim Tier ist annähernd die gleiche. Die ersten Spuren von Jod treten nach ca. 3 Stunden im Harn auf, und nach 48 Stunden ist die Ausscheidung beendet. Es erscheinen im Harn ca. 70 bis 80% des Jods wieder. Über den Verbleib der restierenden 20 bis 30% läßt sich mit Sicherheit nichts sagen, nur soviel steht fest, daß mit den Faeces so gut wie nichts zur Ausscheidung gelangte. Bezüglich des im Präparat enthaltenen Eisens ist hervorzuheben, daß dasselbe zu einer beträchtlichen Anreicherung des normal in der Leber vorhandenen Eisens geführt hat.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

XIX. Mitteilung.

Fortgesetzte Beiträge zur Lehre von der Funktion der Milz als Organ des Eiweißstoffwechsels. Über die Kompensationsvorgänge nach Milzexstirpation.

Von

Hans Sollberger.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 15. Juli 1913.)

Mit 24 Figuren im Text.

I. Einleitung.

In einer vorausgehenden Arbeit hatte Hans Vogel[1]), fußend auf der von Asher aufgestellten Lehre, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei, gezeigt, daß zwischen einem normalen und einem milzlosen Hunde sofort große Unterschiede in bezug auf Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl bestehen, wenn beide Tiere eisenarm ernährt werden.

Das normale Tier zeigt innerhalb der Versuchsdauer von einigen Wochen nichts Abweichendes; das milzlose Tier reagiert mit Abnahme von Blutkörperchen und Hämoglobin. Durch Berücksichtigung der Diät hatte Vogel für seine Versuchstiere die Widersprüche aufgeklärt, die hinsichtlich der Rolle der Milz für die Hämatopoese sich vorfinden. Gelegentlich dieser Versuche hatte Vogel den Einfluß eines kleinen Blutentzuges auf das normale und das milzlose Tier geprüft und dabei gefunden, daß derselbe beim milzlosen Tiere eine kurz andauernde Steigerung von Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl bewirkte, während beim normalen Tier eine leichte

[1]) Hans Vogel, Fortgesetzte Beiträge zur Funktion der Milz als Organ des Eisenstoffwechsels. Diese Zeitschr. 18, 386, 1912.

Abnahme beider erfolgte. Der Gegenstand erforderte weitere Untersuchung, und ich unternahm dieselbe auf Rat und unter Beihilfe von Herrn Professor Asher.

Die Erscheinung, daß ein milzloses Tier nach einem Blutentzug geradezu bessere Verhältnisse seines Blutes als ein milzhaltiges zeigt, steht nicht ohne Analogien da. Es sind Beobachtungen veröffentlicht worden, wo bei einem entmilzten Menschen die Zahl der Blutkörperchen und die Hämoglobinmenge größer befunden wurde als bei normalen.

Auch am Tiere liegen Befunde vor, aus denen hervorgeht, daß nach der Milzexstirpation die Blutkörperchenzahl größer sein kann als vorher, beispielsweise von Bottazzi und von Gabbi[1]).

Es mag gleich hier hervorgehoben werden, daß Gabbi die Vermehrung der roten Blutkörperchen nach Milzexstirpation nur an Meerschweinchen konstatieren konnte, nicht an Kaninchen, an denen ich meine Versuche angestellt habe. Derartige Erfahrungen bedurften einer Erklärung, und als nächstliegendste bot sich die dar, daß durch die Entfernung der Milz ein Faktor weggefallen sei, der zur Zerstörung der roten Blutkörperchen beitrage. Die Milz sollte somit eine hämatolytische Funktion besitzen.

Die sehr interessanten Ergebnisse von Pugliese[2]), der fand, daß nach der Entfernung der Milz unter den verschiedensten Bedingungen im Vergleich zum normalen Tiere die Galle weniger Gallenfarbstoff enthält, können als Stützen für die Lehre von der hämatolytischen Funktion der Milz herangezogen werden, wenn man annimmt, daß der Blutfarbstoff, der nach Puglieses Erklärung in der Milz aufgespeichert wird, um von dort der Leber behufs Umwandlung in Gallenfarbstoff zugeführt zu werden, dort durch Hämatolyse entsteht. Die Aufspeicherung von Eisen in der Milz ist unzweifelhaft in mannigfacherweise erwiesen. Hingegen ist die Hämatolyse auf Grund von Puglieses Beobachtungen zwar sehr wahrscheinlich, aber nicht zwingend. Denn ebensogut würden sich die Beobachtungen

[1]) U. Gabbi, Zieglers Beiträge zur allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie **19**, S. 647.

[2]) A. Pugliese, Arch. f. Anat. u. Physiol. **1889**, S. 60 und Pugliese und Luzzatti, Arch. per le scienze medic. **24**.

erklären, wenn die Milz nur ein wichtiger Aufspeicherungsort für anderwärts freigewordene Vorstufen des Gallenfarbstoffes wäre und wegen ihrer bevorzugten Lage zur Leber leichter als andere Orte diese Vorstufen abgibt. Insgesamt verfügen wir jedenfalls über eine ganze Reihe von Tatsachen, die es dringend nahelegen, die zuerst von Vogel beobachtete Reaktion der milzlosen Tiere auf einen kleinen Blutentzug in Zusammenhang mit der hämatolytischen Funktion der Milz zu bringen.

Die soeben erwähnten Tatsachen geben aber auch Veranlassung, die Aufklärung für dieselben auch nach einer andern Richtung hin zu suchen. Die nicht wenigen Beobachtungen, wo nach Milzexstirpation keine wesentlichen Änderungen in den Verhältnissen von Hämoglobinmenge und roten Blutkörperchenzahl eintraten, deuten unzweifelhaft darauf hin, daß — falls bestimmte von Asher und seinen Mitarbeitern aufgeklärte Bedingungen eingehalten werden —, eine vollständige Kompensation des Milzverlustes stattfindet. Da nun unter normalen Bedingungen schon dem Knochenmark der Hauptanteil bei der Blutkörperchenbildung zukommt, so ist zunächst daran zu denken, daß dieses hämatopoetische Organ in seiner Leistungsfähigkeit kompensatorisch erstarkt. Betrachtet man Milz und Knochenmark als ein in dieser Beziehung zusammengehöriges Organsystem, so läge etwas Analoges vor, wie bei der kompensatorischen Hypertrophie eines Organes, von dem ein Teil entfernt worden ist. Es gibt natürlich noch andere Ursachen, weshalb bei der Wegnahme eines Organes ein anderes hypertrophieren kann, die gleichfalls im Auge behalten werden können.

Ob außer an das Knochenmark noch an die Leber oder an das lymphatische System zu denken sei, steht dahin; das Knochenmark steht jedenfalls im Vordergrund.

Mit Rücksicht auf den soeben entwickelten Gesichtspunkt erscheint es daher angebracht, sich zu fragen, ob nicht der kleine Blutentzug bei einem milzlosen Tier einen größern Reiz ausübt, weil das übrige hämatopoetische System, insonderheit das Knochenmark, hypertrophisch oder funktionell empfindlicher geworden ist.

II. Versuchstiere, Methodik, Voruntersuchungen.

Die Untersuchungen wurden im Unterschiede von denjenigen von Vogel an Kaninchen ausgeführt, um die in der Einleitung skizzierten Phänomene an einer andern Tierart zu studieren.

Es waren dazu zwei Tiere gleichen Wurfes gewählt, die ungefähr gleiche Größe hatten und nicht weit voneinander abweichende Hämoglobin- wie Erythrocytenwerte aufwiesen. Die beiden Versuchstiere wurden unter gleichen Ernährungsverhältnissen gehalten. Sie bekamen nämlich das gewöhnliche Futter und wurden keinerlei Einschränkung der Nahrung unterworfen. Dabei erhielten sie also auch das nötige Eisen in dem zugeführten Futter. Diesen Punkt möchte ich hier kurz bemerkt haben, weil ich später einmal im Laufe der Versuchsreihen darauf zurückkommen werde.

Mit einigen wenigen Worten möchte ich über die Methodik sprechen. Die Hämoglobinmenge wurde mit dem von Professor Sahli angegebenen Hämoglobinometer gemessen. Die Zahl der roten Blutkörperchen wurde mit Hilfe der Thoma-Zeißschen Zählkammer bestimmt. Ich möchte zu der Blutbestimmung nur bemerken, daß das nötige Blut den Venen des Ohres entnommen wurde. Vor jeder Blutentnahme wurde das Ohr mit Alkohol und Äther gut gereinigt, und alsdann wurde mit dem Franckschen Schnepper, der auch vor und nach jedem Gebrauch mit antiseptischen Lösungen gewaschen wurde, der Stich in eine Vene gemacht und das nötige Blut in eine Zeißsche Mischpipette aufgesogen. Da während der länger andauernden Arbeit für die Versuchsreihen sehr viele Stiche notwendig wurden, so schenkte ich der Pflege der Ohren große Aufmerksamkeit, damit keine Infektion auftreten konnte.

Bevor nun die Versuche begonnen werden konnten, mußten zunächst die normalen Werte der Hämoglobinmenge wie die Zahl der roten Blutkörperchen des Versuchstieres wie des Kontrolltieres bestimmt werden. Damit ich mir Übung in genauer Hämoglobin- und Erythrocytenbestimmung nicht erst im Laufe der auszuführenden Versuche aneignete, so widmete ich zunächst 3 Wochen diesen Messungen. Ich habe Tag für Tag während dieser ersten 3 Wochen diese Feststellungen ausgeführt. Diese längere Zeit der Voruntersuchung gab mir in erster Linie die nötige Sicherheit in genauen Bestimmungen und lehrte mich die Fehlergrenzen der Methode. Sie ergab aber auch die etwaigen Schwankungen der geprüften Werte ohne jeden weitern experimentellen Eingriff und ergab daher mittlere Werte für die Hämoglobinmenge und die Zahl der roten Blutkörperchen der beiden Versuchstiere.

Im ganzen Verlauf der Untersuchung habe ich meist Doppelbestimmungen gemacht.

Als Mittelzahlen für das Blutbild legte ich folgende den Untersuchungen zugrunde:

Versuchstier { Hämoglobin 65 / Erythrocyten $5^{300\,000}$

Kontrolltier { Hämoglobin 60 / Erythrocyten $4^{650\,000}$

Das Versuchstier wurde später entmilzt und das Kontrolltier diente als Vergleichsobjekt des normalenl Butbildes mit dem des Versuchstieres.

III. Die Operation.

Die Splenektomie wurde, wie bereits oben angegeben, an einem der beiden Tiere, dem als „Versuchstier" bezeichneten, am 5. Dezember 1911 unter antiseptischen Kautelen ausgeführt.

Das Kaninchen befand sich nach der ausgeführten Operation während der ganzen Heilungsdauer stets in ausgezeichnetem Zustand. Die Wunde heilte auch in kürzester Zeit per primam.

Nach Abschluß der Arbeit wurde festgestellt, daß die Milz total entfernt war und keine vikariierenden Nebenmilzen sich ausgebildet hatten.

IV. Die Wirkung der Entmilzung auf Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl.

In diesem Abschnitt sind zuerst die Beobachtungen zu verzeichnen, die infolge der Entfernung der Milz gemacht werden konnten, ohne daß dabei sonst irgendein Eingriff am Tier geschah.

1. Das Hämoglobin.

Am 5. XII. besaß das Versuchstier 65 Hämoglobin, ein Wert, der sich ziemlich konstant über 3 Wochen lang erhalten hatte. Wie bereits mitgeteilt, wurde die Operation an diesem Tage ausgeführt. 5 Tage nach dem Eingriff erfolgte die erste Bestimmung.

Es fand sich nun am 5. Tage, den 10. XII., eine Hämoglobinmenge von 70. Vor der Entmilzung habe ich einen so hohen Wert an dem Versuchskaninchen nicht beobachten können.

Am 12. XII. folgte die nächste Bestimmung von 65; am 13. XII. ebenfalls 65; am 15. XII. beginnt die Hämoglobinmenge auf 67 zu steigen, am 18. XII. auf 68 und am 19. XII. auf 70. Am 20. XII. steigt sie auf 71 und am 21. XII. auf 72.

Im ganzen ist eine merkliche Erhöhung des Hämoglobinwertes infolge der Milzexstirpation zu konstatieren. Zuvor tritt eine kurz andauernde Unterbrechung des Anstieges durch eine Rückkehr zur Norm ein, dann steigt die Hämoglobinmenge ununterbrochen und bleibt hoch. Denn nach einer durch die Weihnachtsferien veranlaßten Pause von 3 Wochen fand sich der gleiche hohe Wert. Am 12. I. 1912 Hämoglobin 73; am 15. I. 71.

2. Wirkung auf die roten Blutkörperchen.

In bezug auf die Erythrocyten ergab sich folgendes:

Am 5. XII., an welchem Tage die Entmilzung ausgeführt wurde, fand sich vor der Operation $5^{300\,000}$. 5 Tage nach dem Eingriff, also am 10. XII., zählte ich $7^{550\,000}$. Am 12. XII. war die Zahl wieder gesunken auf $5^{130\,000}$. Am 13. XII. beginnt eine allmähliche Steigerung auf $5^{400\,000}$.

Am 15. XII. auf $5^{540\,000}$; am 18. XII. fand ich $5^{250\,000}$; am 19. XII. konstatierte ich einen leichten Anstieg auf $5^{630\,000}$. Am 20. XII. und 21. XII. wurden dieselben Zahlen festgestellt.

Es findet also nach der Milzexstirpation im Anfang eine erhebliche Steigerung der Blutkörperchenzahl statt. Dann sinkt dieselbe, um sich

dann allmählich wieder auf einen Wert zu heben, der höher als normal ist. Allerdings ist die Erhöhung nicht so groß wie diejenige der Hämoglobinmenge. Mit Berücksichtigung dieser Tatsache ergibt sich, daß das Verhältnis $\frac{\text{Hämoglobin}}{\text{Blutkörperchen}}$ nach der Milzexstirpation gleichfalls gestiegen ist.

Damit man über die Wirkung der Entmilzung auf das Blutbild, also auf Hämoglobin und die roten Blutkörperchen, einen sofortigen Überblick bekommt, habe ich die gefundenen Zahlen in Kurven und Tabellen zusammengestellt.

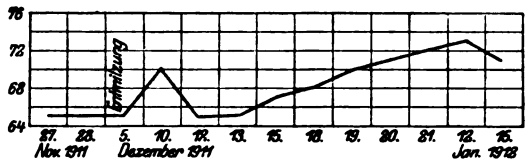


Fig. 1a. Hämoglobinkurve nach der Entmilzung des „Versuchstieres".

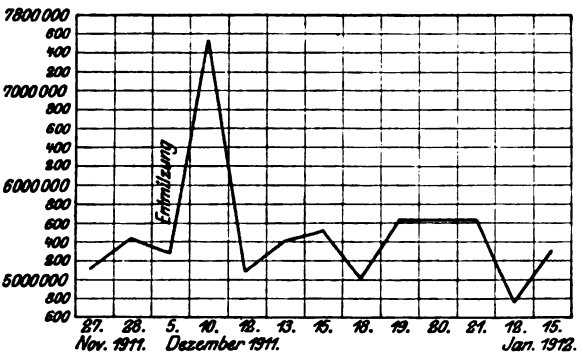


Fig. 1b. Erythrocytenkurve nach der Entmilzung des „Versuchstieres".

Tabelle I.

Versuchstier.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
27. XI. 1911	65	5 175 000
28.	65	5 425 000
5. XII.	Entmilzung 65	5 300 000
10.	70	7 550 000
12.	65	5 120 000
13.	65	5 400 000
15.	67	5 540 000
18.	68	5 250 000
19.	70	5 630 000
20.	71	5 630 000
21.	72	5 680 000
12. I. 1912	73	4 785 000
15.	71	5 360 000

Zusammengefaßt besteht also die Wirkung der Milzexstirpation in einer ziemlich beträchtlichen Erhöhung der Hämoglobinmenge und einer nicht so großen, aber merklichen Vermehrung der Blutkörperchenzahl. Meine Versuche am Kaninchen führen zu einem Ergebnis, das, wie in der Einleitung bemerkt wurde, auch an Menschen und Tieren erhalten worden ist.

Bekanntlich hat das widersprechende Resultat, daß nach der Milzexstirpation bald Vermehrung, bald Verminderung von Hämoglobin und Blutkörperchenzahl beobachtet wurde, viel Verwirrung angestiftet. Erst durch die Arbeit von Vogel ist in bezug auf diesen Punkt Klarheit geschaffen worden, indem er nachwies, daß, solange ein milzloses Tier eisenarm ernährt wird, dann die Blutbildung leidet, und das von Asher aufgestellte Postulat so erfüllte. Sowie er dem milzlosen Hund eisenreiches Futter gab, hob sich sofort Hämoglobinmenge und die Blutkörperchenzahl. Bei Durchsicht seiner Versuchsprotokolle[1]) ergibt sich, daß der Hämoglobingehalt beim milzlosen Tier nach Fütterung mit eisenreicher Nahrung nicht allein den normalen Wert erreicht, sondern denselben sogar übersteigt. Denn vor der Entmilzung betrugen die Hämoglobinwerte 64 bis 68, während sie in dieser letzten Periode eisenreicher Nahrung beim entmilzten Tier 70 betrugen.

Es besteht daher zwischen diesen Versuchen Vogels am milzlosen Hund und meinen am milzlosen Kaninchen, das mit eisenreichem Futter gefüttert wurde, volle Übereinstimmung.

Es bleibt die Aufgabe zu erklären, weshalb milzlose Tiere mehr Hämoglobin und auch mehr Blutkörperchen haben können als ein normales. Die Voraussetzung für das Zutagetreten dieser Erscheinung ist die Fütterung mit eisenreicher Nahrung, wie Vogel gezeigt hat. Sie ist aber nur eine Voraussetzung und nicht eine Erklärung, da eisenreiche Nahrung beim normalen Tier ohne Einfluß auf die hier betrachteten Verhältnisse des Blutes ist. Eine Erklärung aber würde in der Annahme liegen, daß durch Entfernung der Milz ein auch an der Hämolyse beteiligtes Organ weggenommen ist, so daß sich der Umfang der Hämolyse gegenüber der Norm vermindert habe. Da zum mindesten noch die Leber ein hämatolytisches Organ ist, wie an der Fortdauer einer wenn auch verminderten Gallenfarbstoffbildung ersichtlich ist, kann man durch Milzverlust eben nur einen Bruchteil der Hämolyse wegfallend denken. Die Vermehrung der Hämoglobinmenge und der Blutkörperchenzahl in meinen Versuchen könnte also durch zwei Momente erklärt werden: Erstens durch die Fütterung mit eisenreicher Nahrung, so daß der Verlust von Eisen auf dem Wege des Kotes infolge Fehlens der Milz kompensiert wird, und zweitens durch die Herabsetzung des Umfanges der Hämolyse. Die vorliegende Versuchsreihe

[1]) Hans Vogel, l. c., S. 403.

gestattet nicht zu entscheiden, ob diese Erklärung ausreichend ist. Nachfolgende Versuche lassen nun ein anderes Moment noch hervortreten, nämlich das Vorhandensein einer gegenüber der Norm erhöhten Leistungsfähigkeit der hämatopoetischen Apparate. Es ist klar, daß den Verlust überdeckende Eisenzufuhr und kompensatorische, funktionelle Hypertrophie der hämatopoetischen Apparate das Resultat ebenso gut erklären könnten.

V. Der kleine Blutentzug. Seine Wirkung auf das Blutbild, sowohl des entmilzten als auch des Kontrolltieres.

Wie in der Einleitung bereits angegeben, hat schon Vogel (l. c.) Versuche über den kleinen Blutentzug beim milzlosen und Kontrolltiere ausgeführt. Bei Vogel spielen diese Versuche nur eine beiläufige Rolle. Mir fiel die Aufgabe zu, die Verhältnisse nach dem kleinen Blutentzug am Kaninchen mehr systematisch zu verfolgen.

Der Gedanke, der zur Anwendung des kleinen Blutentzuges leitete, war der, in demselben ein methodisches Mittel zu besitzen, um eine etwaige Funktionsprüfung des hämatopoetischen Apparates, speziell des Knochenmarkes, zu besitzen. Es bestehen hinreichende Anhaltspunkte, daß ein kleiner Blutentzug die Blutneubildung fördert oder als ein Reiz zur Blutneubildung wirkt. Es gehört der kleine Blutentzug zur Kategorie derjenigen Reize, die durch einen gesetzten Mangel zu reizen vermögen, ein Mangel, der noch nicht so groß ist, daß er tief schädigend wirkt. Ganz ähnlich verhält es sich mit Sauerstoffmangel und, wie Vogel gezeigt hat, mit Eisenmangel beim normalen Tier, wenigstens im Anfang. Es läßt sich nun annehmen, daß, falls eine kompensatorische Funktionssteigerung des Knochenmarkes sich ausgebildet hat, dasselbe auf den gleichen Reiz mit einer stärkeren Erregung, das heißt mit einer stärkeren Blutneubildung reagiert als ein normales Knochenmark. Während meine voraufgehende Versuchsreihe keinerlei experimentelle Differenzierung zwischen Minderung der Hämolyse und Funktionssteigerung eines andern Apparates zuließ, soll der kleine Blutentzug eine direkte Methode sein, etwaige Funktionssteigerung des Knochenmarkes zu prüfen.

Vorerst mögen einige knappe Angaben über die beim kleinen Blutentzug geübte Methodik gemacht werden.

Das Kontrolltier und das splenektomierte Kaninchen bekamen wieder zuerst Morphium subcutan, damit der Eingriff ohne Drängen der Tiere

möglichst leicht gemacht werden konnte. Der Blutentzug wurde an der sehr leicht zugänglichen Carotis ausgeführt. Nach sorgfältiger Entfernung der Haare an der Operationsstelle wurde dieselbe mit Tinct. Jod. gehörig bestrichen. In der Mittellinie wurde ein Hautschnitt gemacht, nicht größer als gerade genügte, ein Stück der Carotis frei zu legen. Da an demselben Tier auf der gleichen Seite — um nicht die Carotis der andern Seite benutzen zu müssen und dadurch die Blutversorgung des Kopfes zu schädigen —, 3mal Blut entnommen werden sollte, mußten einige besondere Vorkehrungen getroffen werden. Erstens wurde die erste Blutentnahme so hoch oben wie möglich gemacht. Die beiden nachfolgenden wurden entsprechend etwas tiefer angelegt. Zweitens mußte der Raumersparnis wegen auf Einbindung einer Glaskanüle verzichtet werden. Anstatt dessen benutzte ich einen der Größe der Kaninchencarotis angepaßten metallenen Troikart, von der Art, wie er bei den menschlichen Venaesektionen gebraucht wird. Die scharfe Spitze desselben war möglichst kurz, das Lumen weit, um das Blut rasch ausfließen zu lassen, und um also der Gerinnung vorzubeugen. Der Troikart besaß eine kurze, blattförmige Handhabe zum Halten während der Einführung in die Arterie. Peripheriewärts wurde abgebunden, zentralwärts eine Klemme angelegt. In das so abgegrenzte Stück der Arterie wurde der Troikart eingestoßen, die Klemme geöffnet und die gewünschte Blutmenge abgelassen. Dann wurde der schon vorher bereitgelagerte Faden dicht unterhalb der Mündungsstelle des Troikarts in der Carotis zugebunden und der Troikart entfernt. Der Verschluß durch die beiden sterilen Fäden wurde sorgfältig kontrolliert und hierauf die Muscularis und dann die Haut durch Naht vereinigt. Irgendein weiterer Blutverlust bei der kleinen Operation wurde vermieden. Die Operationsstelle wurde mit Alkohol und Äther gereinigt und die Wunde durch einen Gaze-Kollodiumverband gegen äußere Infektion geschützt.

Es gelang auf diese Weise, an dem milzlosen Kaninchen 3mal aus derselben Carotis Blut zu entnehmen. Jedesmal verlief der Eingriff ohne Störung und die Wunden heilten per primam.

Das gleiche gilt von den Blutentzügen, die am normalen Kontrolltiere gemacht wurden. Beim milzlosen Tier wurde am 17. I. 12 ein erster kleiner Blutentzug von 9,5 ccm gemacht und am gleichen Tage dem normalen Tier 8,0 ccm Blut entnommen.

Beim milzlosen Kaninchen hatte zunächst der kleine Blutentzug in bezug auf die Hämoglobinmenge ein Steigen von 68 auf 70 zur Folge. Am 19. I. erfolgt ein rapider Anstieg auf 77; am 20. I. beginnt ein Rückkehren auf 76, am 22. I. schon auf 68 und am 23. I. auf 65. Die Norm ist wieder erreicht, und zwar nach 5 Tagen. Ganz ähnlich verläuft der Prozeß bei den roten Blutkörperchen. Am 17. I. fanden sich 5^{400000}, am 18. I. 5^{720000}, am 19. I. ist der Höhepunkt von 6^{665000} erreicht; am 20. I. sinken sie wieder auf 6^{585000}.

Ganz anders verläuft der erste kleine Blutentzug beim normalen Kontrolltier. Am 18. I. ist die Hämoglobinmenge von 60 auf 58 gesunken und sinkt bis zum 19. I. auf 54 herab. Derselbe Wert wurde

am 20. I. gefunden. Am 22. I erhebt sich der Wert auf 58, um am 23. I. wieder auf 55 zurückzufallen.

Was die Blutkörperchenzahl betrifft, so hatte dieses normale Tier am Tage der Blutentziehung, und zwar vor dem Eingriffe 4^{650000}. Nach dem Blutentzug sinkt am folgenden Tag der Wert auf 4^{175000}, um am 19. I. auf 3^{415000} und schließlich am 20. I. auf 3^{230000} zu sinken. Am 22. I. steigt die Zahl wieder auf die Norm von 4^{695000}.

Tabelle IIa.

Kontrolltier.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
17. I. 1912	60	4^{650000}
18.	58	4^{175000}
19.	54	3^{415000}
20.	54	3^{230000}
22.	58	4^{695000}
23.	55	

Tabelle IIb.

Versuchstier.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
17. I. 1912	68	5^{400000}
18.	70	5^{730000}
19.	77	6^{665000}
20.	76	6^{525000}
22.	68	
23.	65	

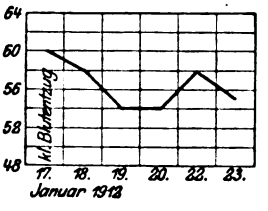


Fig. 2a. Hämoglobinkurve nach dem kleinen Blutentzug für Normaltier I.

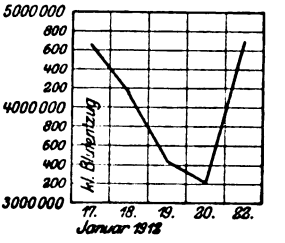


Fig. 2b. Erythrocytenkurve nach dem kleinen Blutentzug für Normaltier II.

Der Unterschied im Verlauf der Erscheinungen nach den beiden Eingriffen ist ein frappanter. Sehr anschaulich kommt derselbe zum Ausdruck in den Kurven (Kurve Nr. 2a und b; Nr. 3a und b), die ich

hiervon angelegt habe. Beim milzlosen Tier besteht die Reaktion auf den kleinen Blutentzug in einer sofortigen und sehr erheblichen Steigerung sowohl von Hämoglobinmenge wie Blutkörperchenzahl. Es ist gar keine Andeutung von einem Fallen der beiden Werte vorhanden. Ganz anders beim normalen Kontrolltier. Hier tritt als sofortige Reaktion auf den kleinen Blutentzug ein starkes Sinken von Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl auf. Von irgendeiner Erhöhung ist hier keine Rede; ja die Norm wird nicht einmal innerhalb 5 Tagen wieder erreicht.

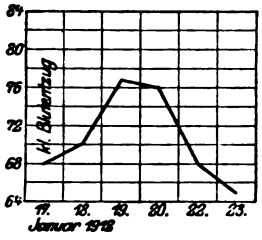


Fig. 3a. Hämoglobinkurve des entmilzten Kaninchens nach dem kleinen Blutentzug.

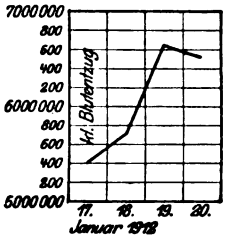


Fig. 3b. Erythrocytenkurve des entmilzten Kaninchens nach dem kleinen Blutentzug.

Der Unterschied ist ein so auffallender, daß, ehe er verwertet werden darf, jede Fehlerquelle ausgeschlossen werden muß.

An eine solche zu denken, gab das Verhalten des Normaltieres Veranlassung. Um so mehr, als das Normaltier im Vergleich zum entmilzten an und für sich kleiner und weniger kräftig entwickelt war. Ich habe deshalb zur Überprüfung ein zweites, sehr kräftig entwickeltes Kaninchen genommen und an demselben den zweiten kleinen Blutentzug vorgenommen. Ehe derselbe ausgeführt wurde, habe ich durch tagelange Bestimmungen von Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl die mittleren Werte für dieselben ermittelt. Es ergab sich für die Hämoglobinmenge 65, für die Blutkörperchenzahl 5^{700000}. Am 26. I. wurde diesem Tier in der oben beschriebenen Weise ein kleiner Blutentzug von 10 ccm gemacht.

Am 27. I. war der Hämoglobinwert auf 60 gesunken und verblieb auf demselben bis zum 29. I. Am 30. I. ist er zur Norm von 63 zurückgekehrt, am 31. I. übersteigt er die Norm und beträgt 68.

Auf diesem Wert hält sich das Hämoglobin dann bis zum 7. II. Die Blutkörperchenzahlen verhalten sich bei diesem zweiten normalen Kontrolltiere nach dem kleinen Blutentzuge folgendermaßen.

Vor dem Eingriff zähle ich 5^{700000}, am Tage nach dem Eingriffe 4^{715000}. Zwei Tage später sogar 3^{635000}, die geringste Zahl. Am folgenden Tage beginnt eine Steigerung auf 4^{110000}, einen Tag später sogar auf 4^{490000}. Drei Tage später ist die Zahl 5^{255000} erreicht. Dann folgt wieder ein Fall auf 4^{915000} am 3. II. Am 5. II. steigen die Erythrocyten wieder auf 5^{305000}.

Tabelle III.

Normaltier II.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
23. I. 1912	65	5 500 000
25.	65	5 790 000
26.	66	4 715 000
27.	60	3 635 000
29.	60	4 110 000
30.	63	4 490 000
31.	68	5 255 000
2. II.	68	4 915 000
3.	68	5 305 000
5.	68	
7.	68	

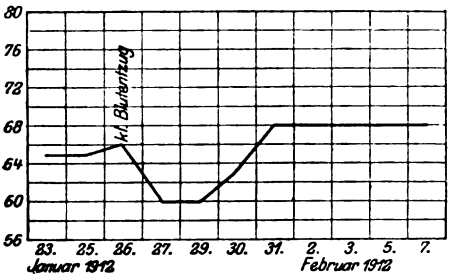


Fig. 4a. Hämoglobinkurve nach dem kleinen Blutentzug für das Normaltier II.

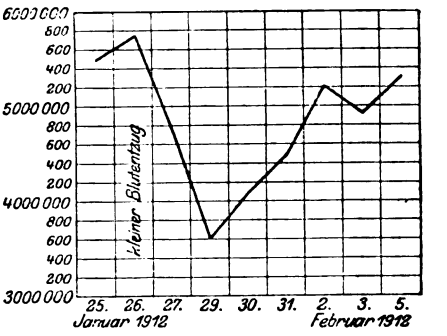


Fig. 4b. Erythrocytenkurve nach dem kleinen Blutentzug für das Normaltier II.

Wie die voraufgehenden Darlegungen und die in Tabellen niedergelegten Protokolle lehren, verhält sich also auch das zweite Normaltier nach dem kleinen Blutentzug anders als das milzlose. Wiederum kommt es primär zu einem nicht unerheblichen Fall der Hämoglobinmenge und der Blutkörperchenzahl, wobei vielleicht der letztere noch etwas ausgesprochener ist. Der einzige Unterschied gegenüber dem ersten normalen Kontrolltier ist der, daß vom fünften Tage an nach dem kleinen Blutentzug die Hämoglobinmenge den normalen Wert übersteigt und mehrere Tage lang auf diesem höheren Wert sich erhält. Die Zahl der Blutkörperchen kehrt allmählich zur Norm zurück, ohne jedoch dieselbe zu überschreiten.

Um andererseits das Verhalten des milzlosen Tieres mit noch größerer Sicherheit beurteilen zu können, wurde an dem-

selben der schon in der Anlage des Experimentes vorbereitete zweite kleine Blutentzug ausgeführt.

Derselbe fand am 24. I. statt. An diesem Tage hatte das milzlose Tier 65 Hämoglobin. Es wurden ihm 11 ccm Blut entnommen. Am 26. I besaß es 67 Hämoglobin, am 27. I. 64, am 29. I. 66, am 30. I. 65, am 31. I. 66, am 2. II. 67, am 3. II. 67, am 5. II. 66 und am 7. II. 65 Hämoglobin. Am Tage des Blutentzuges betrug die Zahl der Blutkörperchen $5^{100\,000}$, am 25. I. $5^{000\,000}$, am 26. I. $5^{390\,000}$, am 27. I. $4^{835\,000}$, am 29. I. $5^{415\,000}$, am 31. I. $5^{090\,000}$, am 2. II. $5^{285\,000}$, am 3. II. $5^{170\,000}$, am 5. II. $5^{145\,000}$. Zur bessern Übersicht gebe ich die Resultate in Form von Tabellen und Kurven (siehe Tabellen und Kurven Nr. 5a und b).

Tabelle IV.

Versuchstier.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
24. I. 1912	65	$5^{100\,000}$
26.	67	$5^{390\,000}$
27.	64	$4^{835\,000}$
29.	66	$5^{415\,000}$
30.	65	
31.	66	$5^{090\,000}$
2. II.	67	$5^{285\,000}$
3.	67	$5^{170\,000}$
5.	66	$5^{145\,000}$
7.	65	

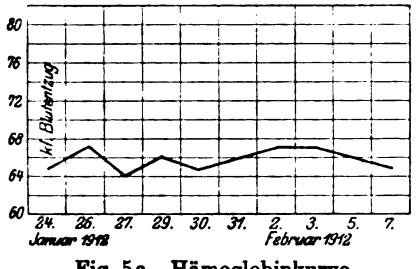


Fig. 5a. Hämoglobinkurve des entmilzten Tieres nach dem zweiten kleinen Blutentzug.

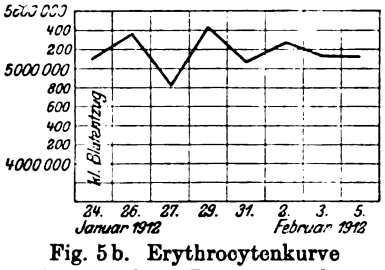


Fig. 5b. Erythrocytenkurve des entmilzten Tieres nach dem zweiten kleinen Blutentzug.

Prinzipiell verläuft der zweite kleine Blutentzug am milzlosen Tier wie der erste. Das hervorragendste Merkmal ist wieder, daß anstatt der beim normalen Tier eintretenden Senkung der Hämoglobinmenge ein zwar nicht so großes, wie beim ersten Male, aber deutliches primäres Ansteigen auftritt. Dann nach einer nur geringfügigen Senkung hält sich die Hämoglobin-

menge auf normaler und gelegentlich übernormaler Höhe. Sehr deutlich wird der Unterschied im Verhalten des normalen und des milzlosen Tieres, wenn man je die beiden Kurven des Verlaufes der Hämoglobinmenge miteinander vergleicht. Die Kurven der beiden Normaltiere zeigen den tiefen Fall, der bei den beiden Kurven vom milzlosen Tier vollständig fehlt. Etwas anders steht es mit der Zahl der roten Blutkörperchen. Hier tritt auch beim milzlosen Tier zuerst ein Fallen der Zahl auf, die aber rasch wieder ausgeglichen wird. Aber dieser Fall ist viel geringer als derjenige bei den beiden normalen Kontrolltieren; er beträgt in runden Zahlen nur eine halbe Million. Hingegen sinkt bei dem ersten Normaltier die Blutkörperchenzahl um 1400000 und bei dem viel kräftigern zweiten Normaltier sogar um 2000000. Im ganzen ist demnach hinsichtlich der roten Blutkörperchen der Unterschied zwischen normalem und milzlosem Tier in diesem Falle hinreichend deutlich.

Da im vorliegenden Versuche Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl gegensinnig verlaufen, folgt daraus, daß das sog. Hämoglobin des einzelnen Blutkörperchens höher geworden ist. Ferner deutet diese Erscheinung darauf hin, daß ein besonderes Moment vorhanden sein muß, um die Hämoglobinmenge hochzuhalten. Wenn ich nun noch meine Erfahrungen hinsichtlich des kleinen Blutentzuges mit den Beobachtungen von Vogel am Hunde vergleiche, so stehen dieselben vollständig im Einklang, in erster Linie darin, daß normales und milzloses Tier verschieden auf den kleinen Blutentzug reagieren, auch darin, daß beim milzlosen Tier ein Steigen der Hämoglobinmenge, beim normalen ein Fallen eintritt. Quantitativ sind die von mir beobachteten Unterschiede größer, was wohl mit der von mir benutzten anderen Tierart zusammenhängt. Da jetzt die verschiedene Reaktion auf den kleinen Blutentzug sowohl bei Hund wie Kaninchen nachgewiesen worden ist, handelt es sich nicht etwa um einen Spezialfall, sondern dürfte von etwas allgemeinerer Bedeutung sein.

Die im vorstehenden Abschnitte beobachteten Tatsachen beweisen, daß das Fehlen der Milz eine andere Reaktion auf den kleinen Blutentzug bedingt als beim normalen Tiere. Das Wesentliche dieser Reaktion liegt darin, daß geradezu eine Überkompensation der gesetzten Störung erfolgt, die so prompt

wirken kann, daß nicht allein die normalen Verhältnisse des Blutes erhalten bleiben, sondern sogar eine Steigerung gegenüber der Norm erfolgt, die im scharfen Kontrast zum Sinken beim normalen Tiere steht. Insbesondere gilt dies vom Verhalten des Hämoglobins.

Wie schon oben im 2. Abschnitt kann die Erklärung für diese Erscheinung darin gesucht werden, daß entweder die Abnahme der Hämolyse infolge Fehlens der Milz oder ein stärkeres Funktionieren des Knochenmarks dafür verantwortlich gemacht werden kann. Es erscheint mir unwahrscheinlich, daß der bloße Fortfall der hämolytischen Funktion der Milz die Erscheinungen genügend erklären könne. Es muß im Auge behalten werden, daß diese Hämolyse durch die Milz bis jetzt eine quantitativ noch unbekannte Größe ist — da sie unbekannt ist, könnte sie natürlich hypothetisch auch sehr groß angenommen werden —, und daß andere Organe außer der Milz an der Hämolyse beteiligt sind, die unter geeigneten Bedingungen kompensatorisch leistungsfähiger werden können.

Noch viel wesentlicher scheint mir aber, daß wegen Fehlens der Milz unter allen Umständen eine größere Menge Eisen dem Organismus verloren geht, wie die Stoffwechselversuche der Asher-schen Schule und diejenigen von Bayer gezeigt haben. Wir können diesen Verlust durch Eisenzufuhr in der Nahrung kompensieren; es ist aber doch sehr fraglich, ob der Ersatz durch Nahrungseisen und die verminderte Hämolyse genügen, um sogar vermehrte Hämoglobinbildung auf einen Eingriff hier zu veranlassen, der beim normalen Tier sogar eine tiefe Störung in den Blutverhältnissen hervorruft. Übrigens ergibt sich aus den Daten, welche die Grundlage zur Lehre von der Funktion der Milz als Organ des Eisenstoffwechsels geliefert haben, eine Möglichkeit der Schätzung der Größe der Hämolyse durch die Milz beziehentlich der Verminderung der Hämolyse durch Fehlen der Milz. Es hatte sich ja ergeben, daß nur bei eisenhaltiger Nahrung die tiefe Abnahme an Hämoglobin beim milzlosen Tiere aufgehalten werden kann. Daraus folgt, daß die Verminderung der Hämolyse allein nicht imstande ist, so viel Eisen dem Organismus zu erhalten, wie täglich auf dem Wege des Kotes verloren geht. Da die absoluten Zahlen für letzteres Eisen nicht sehr groß sind, muß die auf Rechnung der Milz zu setzende

Hämolyse jedenfalls kleiner sein. Diese Beobachtungen lassen die Annahme viel wahrscheinlicher sein, daß beim milzlosen Tier der normale hämatopoetische Apparat, nämlich das Knochenmark, in einem Zustand erhöhter Leistungsfähigkeit sich befindet. Zwanglos fügen sich die von mir beobachteten Tatsachen dieser Annahme. Beim normalen Tier bewirkt selbst ein kleiner Blutentzug eine Abnahme von Hämoglobin und Blutkörperchenzahl, die allmählich ausgeglichen wird; alles dies erklärt sich ohne weiteres. Beim milzlosen Tier ist aber der Annahme zufolge ein leistungsfähigeres Knochenmark vorhanden, und dies offenbart sich darin, daß derselbe kleine Reiz, das heißt der kleine Blutentzug, eine viel stärkere Wirkung hervorruft. Es findet eine stärkere Hämoglobinbildung statt, so stark, daß der Verlust überkompensiert wird, wobei wieder Voraussetzung ist, daß die Nahrung hinreichend Eisen enthält, um den Verlust der Milz auszugleichen.

Zusammengefaßt würde sich das Verhalten des milzlosen Tieres (Kaninchen, Hund) gegenüber dem kleinen Blutentzug erklären durch drei Momente: Erstens die genügende Eisenzufuhr in der Nahrung, zweitens die kompensatorische größere Leistungsfähigkeit des Knochenmarks und drittens Abnahme der Hämolyse. Dem dritten Momente hätten wir nur eine unwesentliche Bedeutung zuzuschreiben.

VI. Der größere Blutentzug und dessen Einfluß auf das Blutbild des milzlosen und des normalen Tieres.

Nachdem die Folgen des kleinen Blutentzugs festgestellt worden waren, schien es nicht uninteressant, die Wirkungen eines größeren Blutentzugs auf das milzlose und das normale Tier zu untersuchen.

Während die methodische Anwendung des kleinen Blutentzugs zuerst durch Vogel und mich auf das Problem der Milzfunktion gemacht worden ist, liegen schon Versuche vor, wo der Einfluß von sehr großen Blutentzügen auf die Dauer der Blutregeneration beim normalen und milzlosen Tier verglichen wurde, beispielsweise von Paton, Galland und Fowler. Gerade die letztgenannten Forscher fanden im Gegensatz zu anderen, daß kein Unterschied zu konstatieren sei. Nun haben diese Forscher einen sehr großen Blutentzug gemacht, der wohl geeignet sein könnte, die tatsächlich vorhandenen Unterschiede zu verwischen. Hier ist zunächst daran zu denken, daß ein sehr großer Blutentzug eine derartige Depression ausüben könnte, daß die Überfunktion des Knochen-

marks zum Wegfall käme. Außerdem dürfte ein Blutverlust, der über gewisse Grenzen hinausgeht, es unmöglich machen, feinere Unterschiede festzustellen.

In meiner Absicht lag es nun, soweit die entzogene Blutmenge zu vermehren, daß gewissermaßen der milde, jedoch wirksame Reiz des kleinen Blutentzugs in einen stärkeren Reiz umgewandelt würde. Nach diesen einleitenden Betrachtungen möchte ich nun auf den großen Blutentzug und dessen Wirkung auf das Blutbild eintreten. Ganz analog dem kleinen Blutentzug verlief dieser Eingriff bei beiden Versuchstieren ganz glatt.

Am 7. II. 1912 wurden dem entmilzten Kaninchen 28 ccm Blut und seinem Kontrolltier 25 ccm Blut entzogen. Am Tage nach dem Eingriff wurde beim splenektomierten Tiere die erste Bestimmung gemacht und im Hämoglobin zunächst eine Senkung von 65 auf 58 beobachtet. Am folgenden Tage, am 9. II. 1912, stieg das Hämoglobin auf 60, um am 10. II. wieder auf 58 zurückzukehren, auf welcher Höhe es sich noch am 12. II. befand. Am 14. II. erreichte das Hämoglobin den tiefsten Stand von 53, alsdann beginnt eine ziemlich rasche Steigerung. Am 15. II. ist bereits 56, am 16. II. 60, am folgenden Tage 62, am 19. II. 67 und am 21. II. 68 erreicht.

Das Hämoglobin ist also ein wenig über die Norm gestiegen. Nachher erfolgt eine Rückkehr zu den normalen Zahlen, indem es zunächst von 68 auf 65 und sogar auf 63 fällt, und erst nachher auf 65 zurückkehrt. Bei diesem Tiere fand ich bei den roten Blutkörperchen analog dem Blutfarbstoff zunächst eine Senkung von $5^{200\,000}$ auf $4^{355\,000}$. Am folgenden Tage, 9. II., fallen die Erythrocyten noch weiter herunter auf $4^{155\,000}$, welche Zahl ich am 10. II. noch finde. Am 12. II. beginnt die erste Steigerung auf $4^{920\,000}$, um dann am 14. II. auf $4^{400\,000}$ und am nächsten Tage sogar auf $3^{695\,000}$, dem tiefsten Punkte, zu sinken. Am 16. II. beginnt eine Steigerung auf $3^{755\,000}$ und am 17. II. auf $4^{615\,000}$. Am 19. II. $4^{660\,000}$, am 21. II. $4^{845\,000}$, am 22. II. $4^{305\,000}$ und am 23. II. $5^{265\,000}$.

Beim Normaltier trat am Tage nach dem Eingriffe eine tiefe Senkung ein. Das Hämoglobin sank von 65 auf 54. Am 9. II. steigt es auf 56, am 10. II. auf 58, am 12. II. auf 65, nachher auf 64, dann wieder auf 65. Am 16. II. erfolgt ein Fall auf 59, am folgenden Tage beginnt wieder eine Steigung auf 62, und am 19. II. ist der Normalwert 65 wieder erreicht. Nachher erfolgt wieder eine kleine Senkung auf 60, dann wieder eine Steigung auf 63 und wieder auf 62.

Die Zahlen schwanken alle etwas unter der Norm.

Mit einem tiefen Fall der roten Blutkörperchen antwortet das Kontrolltier auf die durch den großen Blutentzug erzeugte Anämie.

Am 8. II. fallen die roten Blutkörperchen von $5^{300\,000}$ auf $2^{750\,000}$, also um die Hälfte, hinunter. Am 9. II. beginnt eine Steigung auf $3^{550\,000}$, am 10. II. $3^{400\,000}$; jetzt beginnt ein ziemlicher Anstieg auf $5^{080\,000}$, und am 14. II. wird sogar die Zahl $5^{918\,000}$ erreicht; nachher erfolgt wieder ein Fall auf $4^{350\,000}$. Am 17. II. werden $4^{100\,000}$ gezählt. Am 19. II. erfolgt wieder ein geringer Anstieg auf $4^{312\,000}$, am 22. II. wird die Zahl $4^{110\,000}$ und am nächsten Tage $4^{075\,000}$ erreicht. Nebenstehend habe ich

die Zahlen sowohl des Blutfarbstoffs wie der roten Blutkörperchen für das Versuchstier und das Kontrolltier nach dem großen Blutentzug in Kurven und Tabellen zusammen vereinigt.

Tabelle V.
Versuchstier.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
7. II. 1912	65	5 300 000
8.	58	4 355 000
9.	60	4 155 000
10.	58	4 155 000
12.	58	4 920 000
14.	53	4 400 000
15.	56	3 695 000
16.	60	3 755 000
17.	62	4 615 000
19.	67	4 660 000
21.	68	4 845 000
22.	65	4 305 000
23.	63	5 265 000
29.	65	

Tabelle VI.
Kontrolltier.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
7. II. 1912	65	5 300 000
8.	54	2 750 000
9.	56	3 550 000
10.	58	3 400 000
12.	65	5 080 000
14.	64	5 218 000
15.	65	
16.	59	4 350 000
17.	62	4 100 000
19.	65	4 312 000
21.	60	
22.	63	4 110 000
23.	62	4 075 000

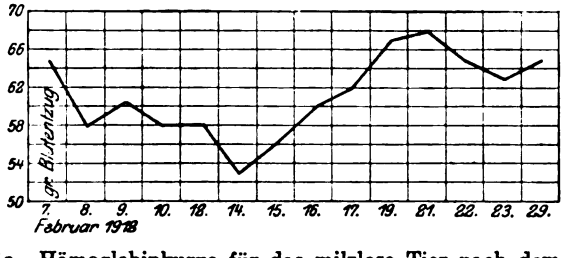


Fig. 6a. Hämoglobinkurve für das milzlose Tier nach dem großen Blutentzug.

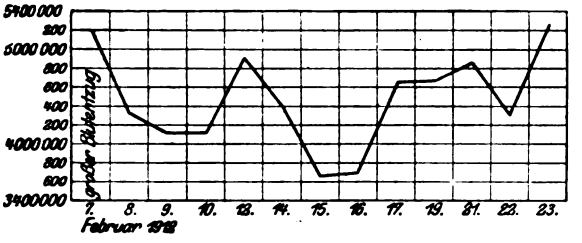


Fig. 6b. Erythrocytenkurve für das milzlose Tier nach dem großen Blutentzug.

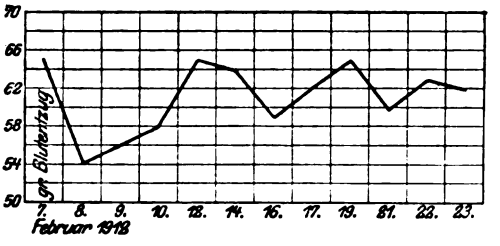


Fig. 7a. Hämoglobinkurve für das milzlose Tier nach dem großen Blutentzug.

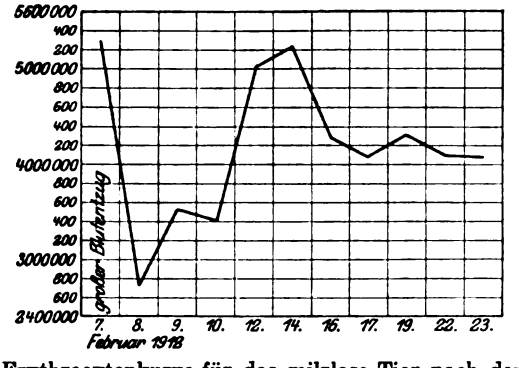


Fig. 7b. Erythrocytenkurve für das milzlose Tier nach dem großen Blutentzug.

Die Wirkungen des großen Blutentzugs auf das Blutbild des splenektomierten wie des Kontrolltieres mögen noch in folgenden Sätzen kurz zusammengefaßt werden.

Auf das entmilzte Kaninchen hatte der Eingriff folgenden Effekt hervorgerufen: Für den Hämoglobingehalt kann zunächst ein Sinken, und zwar ziemlich tief, konstatiert werden, das aber

sofort durch ein rapides Steigen bis über die Norm ausgeglichen wird. Nachher erfolgt eine allmähliche Rückkehr auf die Norm. Ebenso sinken die roten Blutkörperchen sofort nach dem großen Blutentzug ziemlich tief, um nachher unter Schwankungen der Norm immer näher zu kommen. Beim Kontrolltier wird nach dem Eingriff ein sofortiger tiefer Fall sowohl des Hämoglobins als auch der Erythrocyten konstatiert. Nachher beginnt ein Versuch, auf die Norm zurückzukehren, die unter vielen Schwankungen hier und da erreicht wird.

Zu diesen Versuchen bleibt noch zu bemerken, daß die Untersuchungen an dem kräftigen Kontrolltiere II ausgeführt wurden.

Es ist ersichtlich, daß die Erscheinungen nach einem etwas größeren Blutentzug etwas anders verlaufen, als wir im vorhergehenden Abschnitt nach dem kleinen Blutentzug gesehen haben. Denn es tritt als primärer Vorgang nach dem großen Blutentzug auch beim milzlosen Kaninchen ein Sinken des Wertes der Hämoglobinmenge und der Blutkörperchenzahl auf. Es sind bei dieser Menge des Blutentzugs die Grenzen überschritten, jenseits dessen die Kompensationseinrichtungen des milzlosen Tieres den Verlust nicht mehr wettzumachen vermögen. Durch dieses Resultat gewinnen die im vorausgehenden Abschnitt mitgeteilten entgegengesetzten Beobachtungen einen Wert eben als Maß für die Leistungsfähigkeit dieser Mechanismen.

Trotzdem sind merkliche Unterschiede zwischen dem milzlosen und dem normalen Kaninchen zu beobachten, am ausgeprägtesten im Verhalten der Hämoglobinwerte. Wenn auch bei beiden ein Sinken derselben eintritt, so ist doch das Sinken beim milzlosen Tier ein viel allmählicheres, und beim Wiederanstieg erreicht die Hämoglobinmenge kurze Zeit einen sogar über die Norm erhöhten Wert. Im Gegensatz hierzu pendelt beim normalen Kontrolltier die Hämoglobinmenge um einen eher unterhalb des Normalen gelegenen Wert herum.

Der anfängliche Unterschied in der Zahl der roten Blutkörperchen ist sogar noch größer. Denn während beim milzlosen die Zahl der roten Blutkörperchen im Anfang rund um 1 Million sinkt, fällt sie beim normalen Kontrolltier um fast $2^1/_2$ Millionen, Unterschiede, die so groß sind, daß jeder Zufall ausgeschlossen ist. Es kehrt der Wert zwar rasch zur Norm

zurück, fällt aber dann neuerdings und ist in einer späteren Periode noch sehr gegen die Norm herabgesetzt, während er beim milzlosen Tier sich schon viel mehr der Norm genähert hat. Weshalb in diesem Falle bei dem Normaltiere nach einem nicht allzu großen Blutentzug ein unverhältnismäßig großes Sinken der Blutkörperchenzahl eingetreten ist, läßt sich aus den Bedingungen des Versuches nicht erkennen. Man kann nur durch Vergleich mit den Ergebnissen des kleinen Blutentzuges bei den beiden anderen normalen Tieren die Tatsache feststellen, daß selbst bei einem so geringfügigen Blutentzug wie dort die Senkung der Zahl der roten Blutkörperchen gleichfalls unverhältnismäßig groß ist. Dieser Vergleich nimmt demnach dem jetzt betrachteten Fall in der Zahl der roten Blutkörperchen doch den Charakter des Besonderen. Die ganze Sachlage regt die Vermutung an, daß zu der Entnahme der Blutmenge von 8,5 ccm, 10,0 ccm und 25,0 ccm noch ein Moment hinzukomme, das weit über den Blutverlust die Abnahme der Blutkörperchen in die Höhe treibe. Hierdurch sind wir wieder auf die Hämolyse geleitet. Es liegt nun etwas Irrationelles darin, wenn man zur Annahme gelangt, daß mit dem kleinen und mittleren Blutentzug eine Erhöhung der Hämolyse verknüpft sei, die zunächst in der gleichen Richtung schädigend wirken muß, wie der kleine Blutentzug. Vielleicht ist aber — wie rein hypothetisch zur Diskussion gestellt werden soll — gerade die innerhalb physiologischer Grenzen sich bewegende Hämolyse ein Mittel, die Regeneration in Gang zu setzen. Der Gegenstand erfordert weitere Bearbeitung bei einer anderen Gelegenheit.

Wenn wir nun sehen, daß beim milzlosen Kaninchen die Abnahme von Hämoglobin und roten Blutkörperchen kurz nach dem Blutentzug geringer ist als beim normalen Kontrolltier, so liegt es im Anschluß an das Vorausgehende am nächsten, daraus den Schluß zu ziehen, daß durch das Fehlen der Milz der Umfang der Hämolyse sich vermindert habe. Der größere Blutentzug beim milzlosen Tier würde ein Mittel abgegeben haben zur Erkennung der hämolytischen Funktion der Milz. Ob der Fortfall der auf Rechnung der Milz kommenden Hämolyse allein genügen würde, um alle Erscheinungen zu erklären, die in diesem Versuche mit dem größeren Blutentzug

beobachtet worden sind, würde man nur aus den Daten und Kurven dieses Versuchs weder bejahen noch verneinen können. Allerdings würde das nachherige Übersteigen der Norm beim milzlosen Tier aus den gleichen Gründen wie früher sich besser erklären lassen durch ein gesteigertes Funktionieren des Knochenmarkes. Aber ich glaube nicht, daß man zu dieser Erklärung genötigt sein würde.

Erst aus den Folgen des kleinen Blutentzuges und den sich daran schließenden Erwägungen kann man dazu gelangen, auch in den Vorgängen nach dem größeren Blutentzug die Komponente gesteigerter Knochenmarksleistung zu erblicken. Der kleine Blutentzug erweist sich in seiner Eigenschaft als milder Reiz als ein empfindlicheres Prüfungsmittel für feinere Funktionsänderungen. Beiläufig füge ich hinzu, daß Laudenbach durch direkte Untersuchung des Knochenmarkes ein erhöhtes Funktionieren desselben nach Milzexstirpation aus der kirschroten Färbung der Epiphysen erschlossen hat.

VII. Der Einfluß von Aqua amygdal. amar. auf das Blutbild des splenektomierten und des Kontrolltieres.

In den vorausgehenden Abschnitten war wesentlich in der Absicht, eine etwaige gesteigerte Knochenmarksfunktion nach Milzexstirpation zu prüfen, der Blutentzug als Reiz benutzt worden. Es gibt aber noch andere Mittel, von denen man eine Erregung des hämatopoetischen Apparates ausgehen läßt. Hierzu gehört der Sauerstoffmangel. Derselbe läßt sich auf verschiedene Weise experimentell erreichen. Ich wählte hierzu ein chemisches Mittel, das Cyan. Mit Hilfe von Aqua amygdalarum amar. kann man in sehr vorsichtiger Weise die Eingabe von Cyan dosieren. Das Cyan wirkt sauerstoffentziehend. Es gestaltet sich die Fragestellung demnach so, ob bei einem milzlosen und einem normalen Tier die auf chemischem Wege herbeigeführte Entziehung von Sauerstoff gleich oder anders wirke. Um nichts zu präjudizieren, kann man auch die ganz allgemeine Frage berücksichtigen, ob das milzlose und das normale Tier gleich oder verschieden auf schwache Cyanvergiftung reagieren. Vergleiche zwischen der Wirkung eines Giftes auf ein normales und ein milzloses Tier liegen in der Literatur schon vor, und

zwar besonders von Pugliese. Auch Zimmermann hat unter Ashers Leitung Pyrodin in der gleichen Absicht benutzt. Bei den bisher angewandten Giften lag aber entweder die Idee zugrunde, durch diese Gifte die Resistenz der roten Blutkörperchen zu prüfen, so bei Pugliese, oder die blutkörperchenzerstörende Wirkung derselben zu benutzen, um die Wirkung auf die Eisenausscheidung zu beobachten, wie bei Zimmermann. Im ganzen war es bisher die blutkörperchenzerstörende Wirkung, die am meisten interessierte. Der Gesichtspunkt der Reizung durch Sauertoffmangel wie überhaupt der Reizung des hämatopoetischen Apparates war noch nicht der leitende gewesen.

Wie schon angeführt, verleibte ich den Versuchstieren das Cyan in Form von Aqua amygdalarum amarum ein. Die Lösung war so dosiert, daß 1 ccm derselben 1 mg Cyan enthielt.

Für gewöhnlich wurde jedesmal 1 bis 2 ccm subcutan injiziert, so daß die Tiere auf einmal nie mehr als 1 bis 2 mg Cyan erhielten. Das entmilzte Kaninchen vertrug die Injektion von 3 ccm Aqua amygdalarum amarum ausnahmslos ohne sichtbare Störung. Anders das normale Tier. Hier ereignete sich nach Injektion von 2 ccm eine kurz andauernde heftige Intoxikationserscheinung, die sich gelegentlich in starker Dyspnoe äußerte. Deshalb bin ich bei dem normalen Kontrolltier meist auf eine Dosis von 1 ccm herabgegangen. Dann verliefen die Erscheinungen genau wie beim milzlosen Kaninchen. Um sicher zu gehen, habe ich noch ein weiteres normales Kontrolltier benutzt.

Aber auch dieses bot die gleichen Erscheinungen dar. Es hat daher den Anschein, als ob ein milzloses Tier etwas resistenter gegen die Vergiftung mit Cyan sei. Was nun den Erfolg der Injektionen auf das Verhalten der Hämoglobinmenge und der Blutkörperchenzahl betrifft, so ließ sich ein deutlicher Unterschied zwischen dem milzlosen und dem normalen Kontrolltiere feststellen. Allgemein gesprochen war der Unterschied genau der gleiche wie nach den kleinen Blutentzügen. Ehe ich näher darauf eingehe, möchte ich noch die zeitlichen Verhältnisse erörtern, deren Berücksichtigung bei der Blutuntersuchung in dieser Versuchsreihe sich als nötig erwiesen hat. In den früheren Reihen hatte ich die Hämoglobinbestimmung und die Zählung der roten Blutkörperchen alle 24 oder alle 2 mal 24 Stunden vorgenommen. Hier mußte ich aber öfters in Intervallen von 12 und sogar 3 bis 4 Stunden die Bestimmung machen, und zwar aus dem Grunde, weil gerade beim milzlosen Tiere gewisse Veränderungen, die infolge der Cyaninjektionen eintraten, nach 24 Stunden schon abgeklungen waren, sich jedoch in 4 oder 12 Stunden deutlich feststellen ließen. Ich stelle die Resultate der Versuche in Form von Tabellen und Kurven zusammen, um daran die Besprechung derselben zu knüpfen.

Tabelle VII.

Milzloses Kaninchen.

Datum und Quantität der Injektion von Aqua amygd. amar.	Dat. d. nächsten Bestimmung	Hämoglobin	Erythrocyten
	5. VI. 1912	65	5 375 000
6. VI. 1912, 1 ccm	—	—	—
	7. VI.	64	4 980 000
7. VI. 2 ccm	—	—	—
	8. VI.	72	5 370 000
	10. VI.	65	5 765 000
10. VI. 2 ccm	—	—	—
	11. VI.	60	5 188 000
	12. VI.	69	5 000 000
12. VI. 2 ccm	—	—	—
	13. VI.	67	5 100 000
	14. VI.	66	5 400 000
14. VI. 2 ccm	—	—	—
	15. VI.	65	
17. VI. 2h p. m., 2 ccm .	—	—	—
	17. VI. 5½h p. m.	60	5 100 000
	18. VI.	64	4 700 000
18. VI. 7h p. m., 2 ccm .	—	—	—
	19. VI. 8h a. m.	65	4 900 000
19. VI. 7h p. m., 2 ccm .	—	—	—
	20. VI. 1h p. m.	63	5 375 000

Tabelle VIII.

Kontrolltier 3.

Datum und Quantität der Injektion von Aqua amygd. amar.	Dat. d. nächsten Bestimmung	Hämoglobin	Erythrocyten
	5. VI. 1912	63	5 050 000
6. VI. 1912, 1 ccm	—	—	—
	7. VI.	64	4 790 000
7. VI. 2 ccm	—	—	—
	8. VI.	54	4 030 000
	10. VI.	57	3 750 000
10. VI. 1 ccm	—	—	—
	11. VI.	62	4 300 000
11. VI. 1 ccm	—	—	—
	12. VI.	55	4 900 000
11. VI. 2 ccm	—	—	—
	13. VI.	60	3 450 000
	14. VI.	60	4 250 000
14. VI. 2 ccm	—	—	—
	15. VI.	55	
17. VI. 2h p. m., 1 ccm .	—	—	—
	17. VI. 5½h p. m.	55	3 950 000

Tabelle IX.

Kontrolltier 4.

Datum und Quantität der Injektion von Aqua amygd. amar.	Datum der Bestimmung	Hämoglobin	Erythrocyten
	18. VI. 1912.	55	4 750 000
18. VI. 1912, 7h p. m., 2 ccm .	—	—	—
	19. VI. 8h a. m.	50	3 580 000
19. VI. 7h p. m., 2 ccm .	—	—	—
	20. VI. 1h p. m.	49	3 500 000

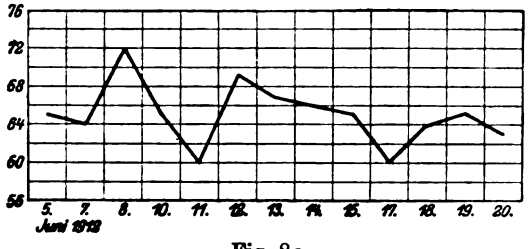


Fig. 8a.

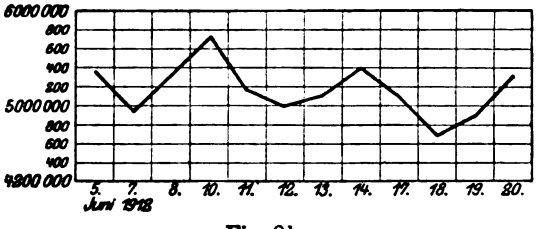


Fig. 8b.

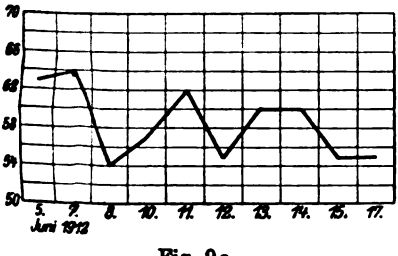


Fig. 9a

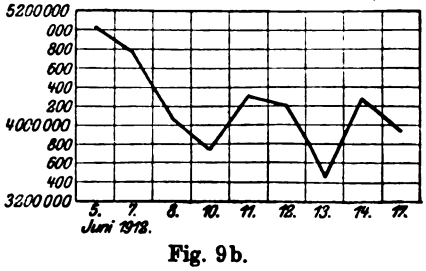


Fig. 9b.

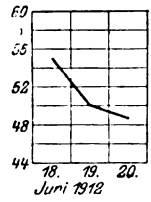


Fig. 10a.

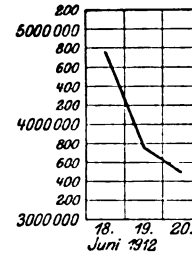


Fig. 10b.

Beim Normaltier tritt nach jeder Injektion von Aqua amygdalarum amarum ein tiefes Fallen von Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl auf. Nach 2 ccm ist das Sinken sogar ein sehr tiefes. Nach dem Fallen steigen die Werte wieder an, aber das Ansteigen vermag den Verlust nicht wettzumachen. Daher zeigt die Kurve der ganzen Periode der aufeinanderfolgenden Injektionen insgesamt einen mehr und mehr abfallenden Verlauf. So ist am 17. VI. (die Versuchsreihe beginnt am 5. VI.) das Hämoglobin schließlich von 63 auf 55, die Blutkörperchenzahl von $5^{050\,000}$ auf $3^{750\,000}$ gesunken. Wenn wir den Vergleich bei diesem Ende anfangen, so zeigt im Gegensatz hierzu das milzlose Kaninchen an diesem Tage eine Hämoglobinmenge von 60, anfangs 65, und eine Blutkörperchenzahl von $5^{100\,000}$ gegen $5^{050\,000}$ im Anfang. Vor allem aber ist weiter, trotz der meist doppelt so großen Giftdosis, das Sinken von Hämoglobin und Blutkörperchenzahl nie so groß wie bei Normaltieren. Der tiefste Fall von Hämoglobin beim milzlosen beträgt 60 gegenüber 54 beim Normaltiere, und das tiefste Sinken der Blutkörperchenzahl beim milzlosen auf $4^{700\,000}$ gegen $3^{500\,000}$ beim Normaltiere. Und was erst recht nicht bei den normalen Kontrolltieren vorkommt, das ist im Anfang der Injektionen einmal eine ganz erhebliche Erhöhung des Wertes von Hämoglobin und Blutkörperchenzahl. Da sich die Injektionen in kurzen Intervallen wiederholen, kommt es auch beim milzlosen Tier immer mehr zum Sinken der beiden Kurven; aber gerade in den Kurven tritt es anschaulich hervor, wie ein viel stärkeres Moment zur Wiederherstellung der Norm vorhanden ist als bei dem normalen Kontrolltier. Alle beobachteten Erscheinungen erklären sich sehr gut durch die Gesichtspunkte, für die ich mich in den vorausgehenden Abschnitten entschieden habe. Wenn wir davon ausgehen, daß beim milzlosen Tier kompensatorisch das Knochenmark eine weit gesteigerte Leistungsfähigkeit besitzt, und dazu die gleiche oder gar noch höhere Empfindlichkeit auf Reize besitzt, so verlaufen die Vorgänge nach Injektionen von Aqua amygdalarum amarum den an die Voraussetzung zu knüpfenden Erwartungen entsprechend.

Denn wir würden erwarten, daß gegenüber einem Normaltier das milzlose ein größeres Regenerationsbestreben zeigen würde. Es soll natürlich nicht bestritten werden, daß auch verminderte Hämolyse an

dem Erfolge seinen Anteil hat. Ich bezweifle aber, daß nach so langer Dauer nach der Milzexstirpation gerade die Abnahme der Hämolyse noch so bedeutend ist. Es fanden nämlich die Versuche dieser Reihe 7 bis 8 Monate nach der Entmilzung statt. Im Blutbilde sind bei meinem Tiere keine Spuren des Fehlens der Milz mehr vorhanden, und dieser Befund deckt sich mit vielfacher Erfahrung, die gemacht worden ist, sowie nicht die geeigneten Maßnahmen getroffen wurden', um doch noch die Folgen des Milzverlustes aufzudecken. Wollte man die recht beträchtlichen Unterschiede in der Reaktion des normalen und des milzlosen Tieres auf die Cyanvergiftung ausschließlich durch den Unterschied in dem Grade der Hämolyse erklären, so müßte man der normalen täglichen Hämolyse eine Größe zuschreiben, für die man gar keinen Anhaltspunkt hat.

Es bleibt nur noch übrig zu fragen, ob nicht etwa die Unterschiede dieser Reihe mit darauf zu setzen seien, daß die Blutkörperchen des milzlosen Tieres gegen die Giftwirkung des Cyans resistenter seien. Dafür würde zu sprechen scheinen, daß der Fall in Zahl der roten Blutkörperchen nach den Injektionen beim milzlosen Tier auffallend klein ist. Aus den Versuchsergebnissen wird sich nur schwer hier eine Entscheidung treffen lassen. Es scheint mir aber, daß die ganze Annahme eines Resistenterwerdens der Blutkörperchen durch Fehlen eines Organes der begrifflichen Klarheit ermangelt. Denn man kann sich keine rechte Vorstellung machen, wie das zustande kommen soll, es sei denn unter der Annahme, daß die Milz einen Stoff liefere, der in der Norm gewisse Blutkörperchen der Zerstörung zugänglicher mache; dieser Stoff müßte nun fehlen. Solange man die Erscheinungen anders erklären kann, scheint es richtiger, von derartigen rein hypothetischen Prozessen abzusehen. Kräftigere Tätigkeit des Knochenmarkes und eventuell verminderte Hämolyse durch Fehlen der Milz reichen zur Erklärung vorderhand aus.

VIII. Einfluß von Injektionen von Aqua amygdalarum amarum beim splenektomierten und beim Kontrolltier nach Thyreoidektomie.

Als ich nahe am Abschluß meiner Arbeit war, erschien eine Arbeit von Mansfeld[1]), in der die Behauptung aufgestellt wurde, daß die durch verschiedene Methoden hervorgerufene

[1]) G. Mansfeld u. Fr. Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 157, 1911.

Sauerstoffarmut vermittels der Schilddrüse ihren Angriffspunkt habe und daß bei Fehlen der Schilddrüse gewisse Folgeerscheinungen des Sauerstoffmangels nicht eintreten.

Mansfeld hat sich u. a. des Aqua amygdalarum amarum bedient, um Sauerstoffmangel zu erzeugen. Diese Arbeit regte dazu an, die Wirkung von Aqua amygdalarum amarum auf Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl am milzlosen und an normalen Tieren miteinander zu vergleichen. Zu diesem Zwecke wurde am 28. VI. 1912 dem milzlosen und dem normalen Kontrolltiere die Schilddrüse exstirpiert. Die aseptisch ausgeführte Operation wurde in Morphiumnarkose gemacht.

Durch einen mittleren Halsschnitt wurde die Schilddrüse freigelegt; die beiden Seitenlappen und die mittlere über der Trachea gelagerte Brücke einzeln für sich abgebunden und exstirpiert. Die beiden äußeren Glandulae parathyreoideae wurden sorgfältig geschont. Die Wunden heilten per primam.

Das Allgemeinbefinden beider Tiere nach der Operation blieb unverändert gut. Es ist immerhin interessant konstatieren zu können, daß das gleichzeitige Fehlen der Schilddrüse und der Milz wenigstens in der ersten Zeit keine erkennbaren Symptome macht. Hingegen zeigt sich ein Unterschied in der Reaktion des normalen und des milzlosen Tieres hinsichtlich des Blutbildes infolge der Operation. Der Hämoglobinwert des milzlosen Tieres steigt von 64 auf 72, während derselbe beim normalen Kontrolltier von 63 auf 60 sich bewegt. Die starke Erhöhung beim milzlosen Tiere kann nicht anders als darauf zurückgeführt werden, daß die Operation bei ihm als ein Reiz auf das hämatopoetische System wirkte. Ein Blutverlust bei der Operation hatte nicht stattgefunden, so daß gar keine Ursache vorliegt, das Moment der verminderten Hämolyse mit hervorzuziehen.

Was nun das Fehlen der Schilddrüse anbetrifft, so ist aus meinen Ergebnissen nicht ersichtlich, daß dasselbe irgendeinen Einfluß ausgeübt habe. Denn beide Tiere reagieren auf die Injektion von Aqua amygdalarum amarum sowohl hinsichtlich der Hämoglobinmenge wie der Zahl der roten Blutkörperchen genau wie vorher.

Tabelle X.

Entmilztes Kaninchen.

Datum und Quantität der Injektion von Aqua amygdalarum	Datum der Bestimmung	Hämoglobin	Erythrocyten
	27. VI. 1912	64	5 700 000
	1. VII.	72	5 920 000
1. VII. 1912, 12^{h} mittags, 2 ccm	—	—	—
	1. VII. 5^{h} p. m.	60	5 900 000
	2. VII.	63	4 250 000
	4. VII.	65	—
4. VII. 1912, 2 ccm	—	—	—
	5. VII. nach 15 St.	60	5 000 000

Tabelle XI.
Kontrolltier.

Datum und Quantität der Injektion von Aqua amygdalarum	Datum der Bestimmung	Hämoglobin	Erythrocyten
	27. VI. 1912	63	5 200 000
	1. VII.	60	5 500 000
1. VII. 1912, 12h mittags, 1 ccm	—	—	—
	1. VII. 5h p. m.	58	4 650 000
	2. VII.	57	3 600 000
	4. VII.	63	—
4. VII. 1912, 2 ccm	—	—	—
	5. VII. nach 15 St.	56	4 100 000

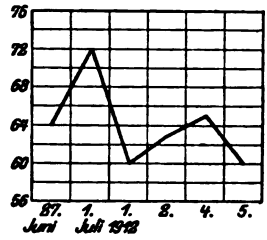


Fig. 11a.

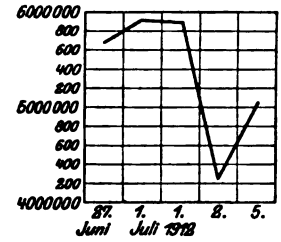


Fig. 11b.

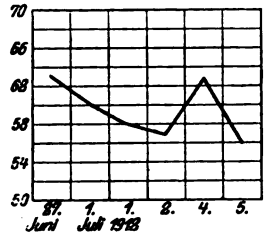


Fig. 12a.

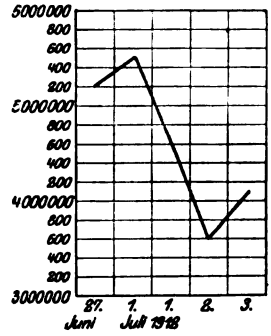


Fig. 12b.

Vielleicht lohnte es sich aber, diese spezielle Frage, da ich aus äußeren Gründen meine Arbeit abbrechen mußte, noch etwas weiter zu untersuchen.

IX. Zusammenfassende Betrachtungen und Resultate.

Die in dieser Arbeit ermittelten Tatsachen lehren, daß ein milzloses Tier sich anders verhält als ein normales. Während in den vorausgehenden Arbeiten von Asher und seinen Schülern gezeigt wurde, daß bei fehlender Milz vermehrt Eisen aus-

geschieden wird und deshalb bei ungenügender Eisenzufuhr in der Nahrung Hämoglobinmenge und die Zahl der roten Blutkörperchen sinkt, hatte meine Arbeit als Ausgangspunkt den anderen Fall, daß Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl normal und übernormal sein können. Hierfür kommen kompensatorische Prozesse und Abnahme der Hämolyse in Betracht. Durch passende Reize, nämlich kleine Blutentzüge, etwas größere Blutentzüge und durch Cyanwasserstoff hervorgerufene Sauerstoffarmut konnte die erhöhte Leistungsfähigkeit und größere Anspruchsfähigkeit des hämatopoetischen Apparates beim milzlosen Tier nachgewiesen werden.

Auf Grund des augenblicklichen Standes unserer Kenntnisse und namentlich mit Rücksicht auf objektive Befunde an den Epiphysen müssen wir zur Annahme gelangen, daß die Funktion des Knochenmarkes nach Ausfall der Milz kompensatorisch gesteigert ist. Daß die Abnahme der Hämolyse nach Ausfall der Milz eine gewisse Rolle spielen könnte, ist möglich, aber nicht beweisbar.

Das Vorhandensein der Verminderung der Hämolyse nach Exstirpation der Milz stützt sich wesentlich auf interessante Feststellungen von Pugliese über die Beziehungen zwischen Milz und Größe der Gallenfarbstoffbildung. Irgendwie in sichere Rechnung setzen läßt sich die Hämolyse nicht, weil wir gar keine Daten besitzen, die uns Anhaltspunkte für die Größe der normalen Hämolyse liefern. Außerdem ist in Erwägung zu ziehen, ob nicht einige Zeit nach der Milzexstirpation die Hämolyse durch kompensatorische Steigerung der sonst an der Hämolyse beteiligten Organe wieder zur Norm zurückkehrt. Hingegen ist es sehr wahrscheinlich, daß die sofort nach der Milzexstirpation beobachtete Vermehrung von Hämoglobin und Blutkörperchen auf dem Ausfall der auf Rechnung der Milz kommenden Hämolyse beruht.

Wir besitzen jetzt eine ganze Reihe von Kenntnissen, die uns in die Lage versetzen, den Versuch zu machen, die nach Milzexstirpation am Menschen und am Tiere gemachten, anscheinend widersprechenden Resultate aufzuklären. Der Fall, wo Hämoglobinmenge und die Zahl der roten Blutkörperchen abnimmt, tritt dann ein, wenn in der Nahrung nicht hinreichend Eisen geliefert wird, um das infolge Fehlen der Milz zu

Verlust gehende Eisen zu ersetzen. Natürlich könnte die reichliche Eisenzufuhr erfolglos sein, wenn aus irgendeinem Grunde etwa der übrige hämatopoetische Apparat im Zustand der Unterwertigkeit sich befinde, vielleicht sogar dann schon, wenn das von mir erschlossene Hyperfunktionieren des Knochenmarkes ausbleibt. Der Fall andererseits, wo nach Milzexstirpation die Hämoglobinmenge und die Zahl der roten Blutkörperchen gegen die Norm erhöht ist, erklärt sich durch die gesteigerte Anspruchsfähigkeit und Leistungsfähigkeit des Knochenmarkes, zum Teil vielleicht auch durch eine Herabsetzung der Hämolyse, alles unter der Voraussetzung, daß in der Nahrung genügend Eisen sich befindet. Das scheinen mir die Grundzüge zu sein, die jeden Widerspruch in den Beobachtungen nach Exstirpation der Milz ohne pathologische Komplikationen zu beseitigen vermögen.

Zusammengefaßt lauten die Resultate meiner Arbeit:

1. Sofort nach der Milzexstirpation am normalen Kaninchen tritt bei eisenhaltiger Nahrung eine Erhöhung der Hämoglobinmenge und der roten Blutkörperchenzahl auf. Dieselbe erklärt sich durch die Abnahme der Hämolyse infolge des Ausfalls der Milz; vielleicht steckt darin auch schon eine Komponente erhöhter Anspruchsfähigkeit des Knochenmarkes.

2. Vergleicht man die Wirkungen sehr kleiner Blutentzüge am normalen und am milzlosen eisenreich ernährten Kaninchen, so ist das Sinken der Hämoglobinmenge und der Blutkörperchenzahl beim milzlosen Tier viel geringer als beim normalen, und beim milzlosen Tier kommt es nicht allein zu einer rascheren Wiederkehr zum normalen Verhalten, sondern es kann auch zu einem Übersteigen der Norm kommen. Dies erklärt sich dadurch, daß das Knochenmark nach Milzexstirpation empfindlicher und leistungsfähiger wird.

3. Bei einem etwas größeren Blutentzug bleibt der geschilderte Unterschied im Verhalten am normalen und milzlosen Kaninchen erhalten.

4. Wird Cyanwasserstoff, der Sauerstoffarmut hervorruft, in Form von Aqua amygdalarum amarum subcutan injiziert, so ist das Verhalten von Hämoglobin und roten Blutkörperchen danach beim normalen und milzlosen Tier verschieden. Beim

milzlosen Tier sinkt im allgemeinen Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl viel weniger und ist die Tendenz zur Wiederherstellung viel größer. Dies erklärt sich am leichtesten aus der Steigerung der Leistungsfähigkeit des Knochenmarkes beim milzlosen Tier.

5. Die Exstirpation der Schilddrüse wirkt als ein nicht spezifischer Reiz auf das milzlose Kaninchen zur erhöhten Hämoglobinbildung.

6. Die Exstirpation der Schilddrüse hat keinen merklichen Einfluß auf die hier geschilderten Erscheinungen der Cyanwasserstoffvergiftung, weder beim normalen noch beim milzlosen Tier.

Soweit dieselben auf Sauerstoffmangel beruhen sollten, hat derselbe durch Fehlen der Schilddrüse nicht an Wirksamkeit eingebüßt.

Über die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus.

I. Untersuchungen über den Einfluß des Phosphors auf die Entwicklung von Tieren und auf den Phosphor- und Stickstoffumsatz.

Von

M. Masslow.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Medizin und der Klinik für Kinderkrankheiten der kaiserl. medizinischen Militär-Akademie in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 23. Juli 1913.)

Vorliegende Arbeit setzt sich zum Ziel, die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus experimentell zu untersuchen. Ungeachtet der großen Literatur über diese Frage erscheint uns vieles noch unklar, ja rätselhaft. Es existieren eine Menge von Lücken, viele Glieder fehlen in der langen Kette des Phosphorkreislaufes im Organismus, und eben diese Glieder stellen eine Tabula rasa dar, die von den einzelnen Forschern mit den verschiedensten hypothetischen Schlußfolgerungen ausgefüllt wird. In Anbetracht dessen sind alle Zwischenetappen des Phosphorkreislaufes für uns mit dem Schleier des Rätselhaften verhüllt.

Die früher angewandten Methoden zeichneten sich schon an und für sich durch ihre Einseitigkeit aus, sie ließen ferner die Möglichkeit verschiedener Deutungen zu. Mittels dieser Methoden gelang es, so manches aufzuklären, vieles andere aber konnten sie nicht entscheiden, und so wurde die Frage immer verwickelter. Von diesem Standpunkt aus drängte sich unwillkürlich der Wunsch nach einer neuen Methode auf, die keine mehrfachen Deutungen zuließe, sondern unbestreitbare Tatsachen lieferte, einer Methode, die in sorgfältigerer Er-

forschung des Chemismus tierischer Gewebe und Organe unter verschiedenen Bedingungen bestehen muß. Man könnte dabei den Phosphor und seine Verbindungen in der Gesamtasche des Tieres bestimmen oder die Asche eines jeden Organes einzeln untersuchen. Die erstgenannte Methode wäre einfacher, ergäbe aber nur ein unvollständiges Bild, da im Organismus beträchtliche Verschiebungen in der Phosphorverteilung stattfinden könnten, ohne mittels dieser Methode nachweisbar zu sein. Die zweite Methode ist selbstverständlich mühsamer, komplizierter, ergibt aber unzweifelhaft wertvollere Resultate im Sinne einer Untersuchung des Phosphorkreislaufes in seinen verschiedenen Etappen. Gerade diese Methode einer systematischen Untersuchung der Organe wurde auf Vorschlag von Frau Dr. N. Sieber unter ihrer Leitung meinen Nachforschungen zugrunde gelegt. Die Methode der Stoffwechseluntersuchungen wurde von mir nur beiläufig als Ergänzung der Hauptuntersuchungen angewandt. Die durch Harn und Faeces ausgeschiedenen Stoffe können das Resultat komplizierter Umwandlungen im Organismus sein; zu denselben gehört stets eine solche Menge von Nebenprodukten, wie die Produkte des intracellulären Stoffwechsels, daß wir nur mit der größten Vorsicht Schlüsse ziehen können über das Schicksal der resorbierten Verbindungen. Aber andererseits gewinnen die gleichen Daten der Stoffwechseluntersuchungen, den organanalytischen Untersuchungen zur Seite gestellt, bereits einen gewissen Wert. Da mir also eine so solide Grundlage wie die chemische Untersuchung der Organe zur Hand war, konnte ich nicht umhin, einige Parallelversuche mit Untersuchungen des Stoffwechsels anzustellen.

Meine Aufgabe bestand darin, experimentell nachzuweisen, ob der Haushalt des Organismus wirklich so großer Phosphormengen bedarf, wie aus den Resultaten der Stoffwechseluntersuchungen hervorgeht; andererseits wollte ich prüfen, welche Veränderungen im Organismus unter dem Einfluß von phosphorarmer Nahrung erfolgen, auf welche Weise der Organismus in diesem Falle seinen Bedarf deckt, welche Organe und Vorgänge zuerst und am meisten leiden. Die zweite Aufgabe war, die Bedeutung der einen oder anderen mit der Nahrung eingeführten Phosphorverbindungen für den Organismus darzutun, d. h. nach-

zuweisen, ob die phosphorhaltigen Lipoide, die organischen Phosphorverbindungen und die anorganischen Phosphate für die Assimilation gleichwertig sind, und dadurch der Lösung des Problems über die Fähigkeit der Tiere zur Synthese komplizierter organischer Verbindungen näherzukommen.

Da es in Anbetracht der komplizierten Methodik unmöglich war, in einer Arbeit alle Phosphorverbindungen zu umfassen, so beschränkte ich mich auf die Untersuchung je eines Vertreters für die Hauptgruppen: des Lecithins als typischen Vertreter der phosphorhaltigen Lipoide, des glycerophosphorsauren Kalkes als Vertreter der organischen Verbindungen, der auch in der Praxis weite Verbreitung genießt, und des phosphorsauren Natriums als Vertreter der Phosphate. Auf diesem Wege konnte man hoffen, der Frage über die Synthese näherzutreten, ferner eine wissenschaftliche Begründung für die Verwendung dieser Präparate in der Praxis geben zu können.

Praktisch suchte ich die Frage folgendermaßen zu lösen. Es wurden mehrere (4) Familien junger Hunde dazu benutzt. Ich wählte Hündchen, weil es nicht leicht ist, erwachsene Hunde von einem Wurf zu finden, die unter gleichen Bedingungen aufwuchsen. Hündchen von einem Wurf, die unter meiner Beobachtung unter gleichen Bedingungen aufgewachsen waren, erschienen dagegen als besonders günstiges Material zum Vergleich der einzelnen Tiere untereinander. Junge Tiere erscheinen ferner in folgender Beziehung als besonders geeignet: Da in dieser Periode die intensivsten Prozesse von Entwicklung und Wachstum vor sich gehen, so bedarf der Organismus ganz besonders einer genügenden Zufuhr von plastischem und Nährmaterial, und im speziellen von Phosphor. Daher muß notwendigerweise schon die geringste Störung in der Zufuhr auf die Entwicklung der Hündchen einwirken.

Etwa im Alter von 6 Wochen wurde den Hündchen die Muttermilch entzogen und sie wurden nun mit Kuhmilch und Haferschleim gefüttert. Erst als die Hündchen vollständig an die gemischte Nahrung gewöhnt waren, d. h. im Alter von 7 bis 9 Wochen, verwendete ich dieselben für die Versuche. In jeder Familie wurde 1 Hündchen vor Beginn der Versuche getötet, um einen Begriff zu bekommen, mit welchem Phosphorgehalt in den Organen der Versuch angetreten wird. Ein

zweites Hündchen diente zur Kontrolle der normalen Entwicklung; es erhielt Milch, Haferschleim, Fleisch (Pferdefleisch) und wurde am Schluß des Versuches getötet; dadurch wurde ich in den Stand gesetzt, zu verfolgen, wie sich der Phosphorgehalt in den Organen unter normalen Entwicklungsbedingungen ändert im Vergleich zu dem Gehalt an Phosphor vor dem Versuch. Die anderen Hunde wurden folgendermaßen gruppiert: die einen erhielten eine an Eiweißen, Fetten und Kohlenhydraten reiche, aber phosphorarme Nahrung, den anderen wurde bei sonst gleicher Diät in bestimmten Mengen Natrium phosphoricum, Calcium glycerinophosphoricum und Lecithin hinzugefügt. Am Schluß des Versuches wurden alle Organe dieser Tiere auf ihren Phosphorgehalt untersucht. Auf diese Weise konnte ich mich fehlerfrei davon überzeugen, ob die genannten Verbindungen resorbiert und im Organismus abgelagert werden, und in Form welcher Verbindungen die etwaige Ablagerung erfolgt. Zum Zwecke einer möglichst vollständigen Klärung dieser Frage wurde die Mehrzahl der Organe auf ihren Gehalt an Gesamtphosphor, an anorganischem und organischem Phosphor untersucht, und da, wo die Quantität des Organes dies erlaubte, auch auf Lipoidphosphor. Nach Kenntnisnahme dieser Tatsachen konnten wir uns leichter über den Kreislauf des Phosphors im Organismus orientieren und konnten uns darüber klar werden, in welcher Form er abgelagert wird.

Nebenbei war ich bestrebt nachzuweisen, ob Milch allein den Bedarf des wachsenden Organismus decken kann, und welche Rolle dabei die Phosphorsalze spielen. Die Tatsache, daß die Tiere zu einer bestimmten Lebenszeit zu gemischter Nahrung übergehen, zeigt uns, daß Milch aufhört das Tier zu befriedigen. Es erschien wünschenswert, mittels der gleichen Methode der Organuntersuchung aufzuklären, wie sich der Phosphorgehalt im Organismus ändert. Daß der Phosphor der Milch eine wichtige Rolle spielt, darauf weisen schon die Untersuchungen Abderhaldens hin. Hundemilch ist beinahe $2^1/_2$ mal so reich an Phosphor wie Kuhmilch und ungefähr 10 mal reicher als Frauenmilch. Indem wir die Hundemilch durch Kuhmilch ersetzen, bringen wir den wachsenden Organismus des Hündchens unter schlimmere Bedingungen, was die Phosphorzufuhr anbetrifft.

Um die Bedeutung des Phosphors klarer hervortreten zu lassen, gab ich einigen Hunden Kuhmilch, aus der ich das phosphorreiche Casein entfernt hatte; ich ersetzte dasselbe durch Eieralbumin, ein Eiweiß, das nur Spuren von Phosphor enthält. Unter diesen Bedingungen sank der Phosphorgehalt der Milch noch um 30 bis 50%, und auf diese Weise wurden die Bedingungen für Phosphorhunger geschaffen. Indem ich die Organe dieser Hunde am Schlusse der Versuche auf ihren Phosphorgehalt prüfte, war ich völlig imstande nachzuweisen, welche Rolle der Phosphor bei der Ernährung mit Milch spielt. Außerdem machte ich es mir zur Aufgabe, nachzuweisen, welche Änderung die fermentativen Funktionen der Organe bei einer ungenügenden Phosphorzufuhr in der Nahrung erfahren, andererseits, wie sich dieselben bei Anwesenheit der einen oder anderen Phosphorverbindung verhalten.

Es genügt nicht, den Stillstand in Gewicht und Entwicklung nachzuweisen, es ist wünschenswert, auch die Ursache desselben zu begreifen; in dieser Beziehung kann die Untersuchung der fermentativen Funktion der Organe uns einiges aufklären. Da die Frage noch ungenügend erforscht ist, erschien es höchst interessant zu verfolgen, inwieweit die Fermentfunktionen von einer genügenden Phosphorzufuhr abhängen. Zu diesem Zwecke wurden alle Organe außer der Untersuchung auf ihren Phosphorgehalt noch auf ihren Gehalt an Fermenten geprüft. Ich untersuchte folgende Fermente: Katalase, Lipase, Amylase, Diastase, Nuclease im Blutserum, in einigen Fällen auch Antitrypsin. Kannten wir den Gehalt der Zellen an Fermenten und Lipoiden, diesen zwei wichtigsten Substanzen der tierischen Zelle, so war es uns leichter, mit dem Wesen der intermediären Lebensprozesse des Organismus bekannt zu werden.

Die Stoffwechseluntersuchungen erfolgten an zwei Familien von jungen Hunden. Die eine derselben bestand aus 3 Hündchen. Als diese etwas heranwuchsen und sich an gemischte Nahrung gewöhnten, verwendete ich sie zum Versuch. Die zweite Familie bestand aus 2 älteren, d. h. 3 Monate alten Hündchen, während die Hunde der ersten Familie bei Beginn des Versuches nur 9 Wochen alt waren. Ein Tier diente zur Kontrolle und erhielt Pferdefleisch, Haferschleim und Milch. Die anderen erhielten eine spezielle Nahrung. Bei Auswahl der Nahrung

wurde vor allem darauf gesehen, daß dieselbe den Bedarf des Tieres an Eiweißen, Fetten, Kohlenhydraten sowie an Salzen (K, Na, Ca, Mg, Fe) decke, dabei aber möglichst arm an Phosphorsalzen sei; zweitens sollte sie möglichst wenig Bestandteile enthalten und wohlschmeckend sein. Als Grundlage für eine solche Diät dienten nur Reis und Eieralbumin.

Die Nahrung war folgendermaßen zusammengestellt:

Reis	100 Teile
Albumin	50 „
Zucker	40 „
Kokowar	50 „

Aus diesem Gemische wurde mit destilliertem Wasser eine Grütze bereitet und vor dem Kochen das Salzgemenge hinzugefügt. Die Salze wurden nach einem in der Arbeit von Lipschütz angeführten Schema zusammengesetzt, d. h. wir nahmen:

KCl	24,0 Teile
NaCl	16,0 „
$CaCl_2$	50,0 „
$MgCl_2$	4,0 „
Ferr. oxyd. sacchar. . .	6,0 „
Im ganzen	100,0 Teile

Aus diesem Gemenge wurden wässerige Lösungen hergestellt, wobei das Eisen apart gelöst und aufbewahrt wurde. In 24 Stunden wurden im ganzen je 6,25 g Salze und 0,375 g Eisen gegeben.

Ehe wir über den Phosphorgehalt dieses Breies sprechen, müssen wir uns darüber klar werden, ob derselbe dem Bedarf an Eiweiß, Kohlenhydraten und Fetten genügt. An Hand der Königschen Tabellen können wir leicht berechnen, daß in dem Gemenge von der obengenannten Zusammensetzung 18,3% Eiweiß, 20,9% Fett und 47,03% Kohlenhydrate enthalten sind. Die größte Bedeutung kommt natürlich dem Eiweißgehalt der Nahrung zu. In dieser Beziehung fehlt es an speziellen Versuchen über die Entwicklung von Hunden, es liegt aber eine Reihe von Beobachtungen an Kindern vor. Eine ganze Reihe von Autoren, die sich mit dieser Frage be-

schäftigten, haben verschiedene Werte für den Eiweißbedarf bei bereits von der Brust entwöhnten Kindern aufgestellt.

Ich verwerte die Angaben Stargardters, der auf Grund seiner Studien über die Literatur der Frage und spezieller Versuche angibt, daß für von der Brust entwöhnte Kinder 1,5 bis 2,5 g Eiweiß pro 1 kg Körpergewicht im Tage genügen. Bei gemischter Nahrung genügen 10 bis 12% Eiweiß in der Gesamtnahrung (andere vergrößern diese Zahl auf 18 bis 20%).

Unter den stickstofffreien Substanzen verdienen die Kohlenhydrate den Vorzug vor den Fetten. Besonders wünschenswert ist, daß sie sich in der Nahrung wie 2:1 verhalten.

Diese für Brustkinder berechneten Tatsachen sind wir berechtigt auch auf wachsende Hündchen anzuwenden.

Vergleichen wir das prozentuale Verhältnis der einzelnen Nahrungsbestandteile, so sehen wir, daß dieselben vollständig den Bedürfnissen des wachsenden Organismus entsprechen.

An den Tieren der ersten Familie wurden 3 vollständige Untersuchungen des Stickstoff- und Phosphorumsatzes ausgeführt: vor dem Versuch, in der Mitte desselben und am Ende der Versuchszeit.

Tabelle I.

Stickstoffumsatz der Hunde.

Datum	Nr. des Hundes	Gesamt-N d. Nahrung g	N des Harns g	N der Faeces g	Summe des ausgeschiedenen N g	Resorption g	Assimilation g	Diät pro Tag
3 Tage v. 14. bis 16. IV.	11	7,64	4,60	1,83	6,43	5,81	+ 1,21	1000 g Milch + 300 g Haferschleim.
	12	7,64	4,16	2,03	6,19	5,61	+ 1,45	do.
	13	30,24	22,10	3,12	25,22	27,12	+ 5,02	250 g Milch + 300 g Fleisch.
3 Tage v. 25. bis 27. IV.	11	11,31	3,27	5,14	8,41	6,17	+ 2,90	500 g Brei ohne P.
	12	8,24	3,75	4,29	8,04	3,95	+ 0,20	500 g Brei ohne P (ein Teil davon wurde nicht aufgegessen).
	13	30,24	22,10	3,12	25,22	27,12	+ 5,09	250 g Milch + 300 g Fleisch.
3 Tage v. 18. bis 20. V.	11	6,33	1,05	3,67	4,72	2,66	+ 1,61	500 g Brei ohne P (ein Teil davon blieb nach).
	12	5,25	1,46	2,28	3,74	2,97	+ 1,51	do.
	13	27,62	23,94	3,05	26,99	24,57	+ 0,63	300 g Fleisch + 200 g Haferschleim.
2 Tage v. 3. bis 5. VI.	14	7,54	4,91	1,53	6,44	6,01	+ 1,10	500 g Brei ohne P + Phosphate.
	15	7,54	4,21	1,53	5,74	6,01	+ 1,80	500 g Brei ohne P.
2 Tage v. 20. bis 21. VI.	14	7,54	4,71	1,62	6,33	5,92	+ 1,21	500 g Brei ohne P.
	15	7,54	2,94	2,32	5,29	5,22	+ 2,25	500 g Brei ohne P + Phosphate.

Bei Durchsicht dieser Tabelle sehen wir, daß das Stickstoffbedürfnis bei der phosphorarmen Nahrung vollkommen gedeckt wurde. In allen Fällen war die Bilanz eine positive. Sogar in den Fällen, wo die Hündchen nicht die ganze Tagesration von Grütze auffraßen, wurde eine Retention von N im Körper erzielt.

Bei Fleischnahrung wird der Stickstoffumsatz bedeutend erhöht, in gleicher Weise steigt auch die Assimilation des N. Zwischen Milchnahrung und phosphorarmen Brei besteht dagegen fast kein Unterschied, weder in der Größe des Stickstoffumsatzes noch in der Assimilation des N.

Die Hunde Nr. 14 und 15 erhielten in der Nahrung außerdem noch Phosphate. In der ersten Periode der Versuche wurden dieselben dem Hunde Nr. 14 gegeben, während Nr. 15 nur Grütze erhielt, in der zweiten Periode war es umgekehrt. Wenn wir die Ziffern ihres Stickstoffumsatzes vergleichen, so sehen wir so geringe Schwankungen, daß wir ihnen keine besondere Bedeutung beimessen können.

Die Assimilation des N ist die gleiche bei Anwesenheit von Phosphaten wie auch ohne dieselben; obgleich wir in der 2. Periode der Versuche eine scheinbar größere Aneignung beobachten, können wir diesen Daten keine besondere Bedeutung zuschreiben, wenn wir zugleich die Geringfügigkeit der Schwankungen und das Fehlen einer Zunahme bei dem ersten Versuche berücksichtigen. Diese Zahlen sind für uns insofern von Bedeutung, als sie uns bestätigen, daß der Eiweißbedarf der Tiere gedeckt wird und daß ein etwaiges Zurückbleiben in der Entwicklung nicht von einem Mangel an Eiweiß in der Nahrung abhängt. Andererseits bestehen die Vorzüge der Fleischnahrung ebenfalls nicht in ihrem Reichtum an Eiweiß; obgleich der allgemeine Stickstoffumsatz bei derselben deutlich ansteigt, ist die N-Assimilation nicht sehr bedeutend, im ersten Falle sogar geringer als bei Hunden, denen phosphorarmer Brei gegeben wurde.

Im folgenden führe ich die Daten hinsichtlich des Phosphorumsatzes an.

Tabelle II.

Phosphorumsatz der Hunde.

Datum	Nr. des Hündchens	P der Nahrung g	P des Harnes g	P der Faeces g	Summe des ausgeschiedenen P g	Resorption d. P Absol. Menge g	Resorption d. P %	Assimilation d. P Absol. Menge g	Assimilation d. P %	Assimilation des P pro Tag im Durchschnitt g	Diät
3 Tage	11	1,440	0,315	0,049	0,364	1,391	96	1,076	74	+ 0,358	Milch + Haferschleim.
v. 14. bis	12	1,440	0,385	0,062	0,447	1,378	95	0,993	68	+ 0,331	do.
16. IV.	13	1,957	0,572	0,204	0,776	1,753	89	1,181	60	+ 0,393	Milch + Fleisch.
	11	0,275	0,035	0,112	0,147	0,163	59	0,128	46	+ 0,042	Phosphorarmer Brei.
3 Tage	12	0,207	0,024	0,130	0,154	0,077	37	0,053	25	+ 0,017	do.
	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	11	0,158	0,022	0,066	0,088	0,092	58	0,070	44	+ 0,023	do.
3 Tage	12	0,131	0,017	0,073	0,080	0,058	44	0,051	38	+ 0,017	do.
	13	1,689	0,942	0,278	1,220	1,411	83	0,469	27	+ 0,156	Fleisch + Haferschleim.
2 Tage	14	0,188	0,186	0,131	0,317	0,057	30	0,129	—	— 0,064	Phosphorarmer Brei.
	15	2,679	1,367	0,275	1,642	2,404	89	1,037	38	+ 0,518	Brei + Phosphate.
2 Tage	14	2,535	1,275	0,473	1,748	2,062	81	0,787	31	+ 0,393	Brei + Phosphate.
	15	0,451	0,039	0,187	0,226	0,264	58	0,225	50	+ 0,112	Phosphorarmer Brei mit Caseinzusatz.

Betrachten wir diese Tabelle.

Die Periode der Vorbereitung, als die Hündchen noch Milchnahrung und Haferschleim erhielten, während das Kontrolltier mit Milch und Fleisch gefüttert wurde, ergab ungefähr die gleichen Assimilationswerte bei allen Hunden. Diese Werte können wir ohne Zögern als normalen Phosphorbedarf der Hunde in dieser Entwicklungsperiode ansehen. Diese Werte entsprechen ungefähr den von Lipschütz angegebenen; derselbe fand den Minimalbedarf gleich 0,230 g P oder 0,144 g P pro 1 kg Körpergewicht. Unsere Zahlen (im Durchschnitt 0,450 g P) sind etwas größer und stellen eher ein Maximum dar.

Beim Übergang auf phosphorarme Nahrung, d. h. auf Grütze, als die Phosphorzufuhr plötzlich von 1,440 g auf 0,275 und 0,207 g sank, mußte für den Organismus Phosphorhunger eintreten, selbst wenn aller Phosphor assimiliert wurde, was natürlich niemals der Fall ist. Die Phosphorassimilation nahm im Vergleich mit dem früheren Wert 0,358 g beinahe um das 10fache ab; für den Hund Nr. 11 betrug sie 0,042 g P, für den Hund Nr. 12 0,017 g P.

Diese Werte stehen bedeutend unter dem Minimum. Augenscheinlich kann der Brei den Phosphorbedarf nicht decken. Interessant erscheint, daß der Prozentsatz der Resorption und Assimilation des Phosphors dabei abnahm. Die ungenügende Resorption läßt sich eventuell noch dadurch erklären, daß die Hündchen Grütze schlechter verdauen als Milch, aber die verminderte Assimilation bleibt doch unverständlich. Freilich muß ich hierzu bemerken, daß bei so geringen Phosphorwerten die Berechnung in Prozenten nicht besonders überzeugend ist. Es unterliegt keinem Zweifel, daß ein Teil des Phosphors bei jeder Art der Nahrung unausgenutzt bleiben kann, andererseits aber kann man annehmen, daß der Phosphor des Harnes einfach das Resultat der Lebenstätigkeit des Organismus, ein Produkt des intracellulären Stoffwechsels, ist.

Die Untersuchungen von Prausnitz, Lipschütz u. a. über die Zusammensetzung von Faeces beim Hungernden ergaben gleichfalls, daß die Faeces immer Phosphor enthalten, und daß 0,6% P die Norm für jede Art Faeces darstellt. Dieser Phosphor stammt entweder aus den Sekreten des Verdauungstraktus oder ist gleichfalls ein Produkt des intracellulären Stoffwechsels.

Berechnen wir den Phosphor der Faeces in Prozenten in unserem Falle, so erhalten wir die Zahlen 0,16% P, 0,24% P für Hündchen auf phosphorarmer Diät, d. h. Mengen, die kleiner sind, als die oben angeführte Norm. Trügen wir diese Korrekturen in die Tabellen ein, so erhielten wir schon ein ganz anderes Resultat, nämlich, daß aller Phosphor der Nahrung resorbiert und assimiliert wurde.

Genau ebenso ändern sich dann die Größe und die Prozente der Assimilation bei Hündchen, die mit Milch oder Fleisch ernährt wurden, und zwar im Sinne einer Steigerung. Auf den ersten Blick scheint es, als ob der Organismus sich sogar mit diesen geringen Phosphormengen begnügen kann. In Wirklichkeit ist das nicht so. Diese Zahlen beweisen uns nur das eine: wenn die Phosphormenge der Nahrung größer ist als die Summe des Phosphors in Faeces und Harn, so ist die Bilanz eine positive; ob aber auch der Bedarf damit gedeckt wird, können wir auf Grund der Stoffwechselversuche allein nicht bestimmen. Wir können nur sagen, daß der Wert des intra-

cellulären Phosphorumsatzes beim wachsenden Hunde ein sehr geringer ist, daher ist die Bilanz eine positive auch bei geringem Phosphorgehalt der Nahrung.

Der Hund Nr. 14 war bedeutend älter ($3^1/_2$ Monate), der intracelluläre Phosphorumsatz bedeutend größer, und wir bekommen bereits eine negative Bilanz. Beim erwachsenen Hunde und beim Menschen ist er noch größer, und die negative Bilanz entsteht noch leichter. Diese Tatsachen zeigen uns, wie vorsichtig man die Daten beim Stoffwechsel verwerten muß.

Ich gehe nicht auf die Einzelheiten des Phosphorstoffwechsels ein. Alle diese Daten wurden durch die Untersuchung der Organe kontrolliert und gewannen von diesem Standpunkte aus größeren Wert. Das, worüber die bei Untersuchung des Stoffwechsels gewonnenen Zahlen nichts aussagten, wurde durch die zweite Methode besonders anschaulich. Nach Anführung der auf die Organuntersuchung bezüglichen Tatsachen werde ich noch auf die Untersuchung des Phosphorumsatzes zurückkommen und dieselbe kritisch beleuchten, vorläufig gehe ich zur Schilderung der anderen Fragen über.

Im ganzen standen mir 13 Hündchen aus 3 Familien zur Verfügung, ungerechnet 2 Hündchen der vierten Familie, die nur zur Untersuchung des Stoffwechsels dienten.

Um Wiederholungen zu vermeiden, werde ich alle Familien zugleich besprechen. Die erste Familie bestand aus 3 Hündchen, die zweite aus 6 und die vierte aus 4 Hündchen. Ein Teil derselben wurde mit Grütze von der oben geschilderten Zusammensetzung gefüttert, ein Teil dagegen erhielt, wie ich bereits in der Einleitung anführte, Milch, entweder ganze Milch oder Albuminmilch. Mit Albuminmilch bezeichne ich Kuhmilch, aus der das Casein entfernt und durch Eieralbumin ersetzt wurde. Berechnen wir Kuhmilch und Albuminmilch in Calorien, so erhalten wir für Kuhmilch 680 Calorien, für Albuminmilch 1385 Calorien. Dabei darf man natürlich nicht vergessen, daß wir immerhin eine Eiweißart durch eine andere ersetzen, was, nach den Beobachtungen an Kindern zu urteilen, für den wachsenden Organismus nicht gleichgültig ist.

Für meinen Zweck war dies aber nicht von Belang. Die Hauptsache war, daß auf diesem Wege eine starke Verarmung der Milch an Phosphor erzielt wurde. In Anbetracht dessen,

daß ein Hündchen im Durchschnitt $^1/_2$ l im Tage austrinkt, berechnen wir, daß die Kuhmilch 0,390 g P enthält, Albuminmilch dagegen 0,110 P. Unzweifelhaft können wir Phosphorhunger erzielen, wenn wir ein derartiges Milchgemenge zur Nahrung verwenden.

In Anbetracht der Angaben Bunges über die Bedeutung des Eisens für den wachsenden Organismus wurden allen Milchhunden täglich Eisensalze (Ferrum oxydatum saccharatum) zur Nahrung hinzugefügt. Auf diese Weise war die Möglichkeit ausgeschlossen, daß Eisenmangel irgendeinen Einfluß auf die Entwicklung des Tieres ausüben konnte.

Alle Hunde wurden in Gruppen verteilt.

I. Familie.

Hündchen Nr. 11: Phosphorarme Grütze
„ „ 12: „ do.
„ „ 13: Kontrolltier; erhielt Fleisch, Milch und Haferschleim.

II. Familie.

Hündchen Nr. 1: Phosphorarme Grütze
„ „ 2: „ „ + Lecithin
„ „ 3: Ganze Kuhmilch
„ „ 4: Albuminmilch
„ „ 5: „ + Glycerophosphate
„ „ 6: Getötet vor dem Versuch.

III. Familie.

Hündchen Nr. 7: Getötet vor dem Versuch
„ „ 8: Kontrolltier; erhielt Fleisch, Haferschleim
„ „ 9: Phosphorarme Grütze + Glycerophosphate
„ „ 10: „ „ + Phosphate.

Alle Hündchen waren ungefähr in gleichem Alter von 7 bis 8 Wochen, die erste Familie 10 Wochen alt. Sie wurden im gleichen Raume, im Erdgeschoß, gehalten und verbrachten die meiste Zeit zusammen. In bestimmten Zeiträumen wurden sie gewogen.

Im folgenden gehe ich zur Schilderung der Veränderungen über, die die Hündchen unter dem Einfluß der einen oder der anderen Nahrung erlitten, und beginne mit der ersten Familie.

Beginn des Versuches am 9. IV. 1912. Im Verlaufe von beinahe einem Monat wurden in der Entwicklung aller Hündchen

keinerlei Unterschiede bemerkt. Die Versuchstiere nahmen ihren Brei gern zu sich, waren munter und standen in nichts hinter dem mit Fleisch gefütterten Kontrollhunde zurück. Das Gewicht nahm sogar während der ganzen Zeit zu. Auf Grund dieser Tatsachen könnte man annehmen, daß der Phosphormangel wenig auf die Entwicklung der Hündchen einwirkt.

Gerade in diesem Stadium der Ernährung wurden die Versuche von Lipschütz abgebrochen. Die weitere Beobachtung zeigte indessen, daß es sich nicht so verhielt. Im Anfange des zweiten Versuchsmonates tritt in der Entwicklung der Hündchen, die phosphorarmen Brei erhielten, eine Veränderung ein, sie bleiben hinter dem Kontrolltier zurück.

Das Gewicht bleibt das gleiche und fängt an zu sinken, sie magern ab, verlieren aber von der Zeit die Munterkeit. Zur Nahrung verhalten sich diese Hündchen vollkommen gleichgültig, sie werfen sich nicht mehr mit Gier darauf wie früher, sondern fressen ungern und viel weniger als früher. Das Fell wird rauh, schmutzig, die Haare gehen aus. Die Hündchen tummeln sich weniger, liegen mehr. Besonders deutlich wurde der Gewichtsverlust von der 7. Woche an, die Abmagerung trat noch deutlicher hervor. Am stärksten wurde das Hündchen Nr. 12 davon betroffen. Es bewegt sich mit Mühe, kommt langsam an die Nahrung heran, frißt ungern. Anstatt 500 g Brei nimmt es nicht mehr wie 200 g zu sich. Durchfälle und Krämpfe treten nicht auf. Zu Beginn der 8. Woche berührte das Hündchen die Nahrung gar nicht mehr und konnte nicht mehr aufstehen; stellte man es auf die Füße, so fiel es vor Schwäche auf die Seite. Beim Anruf wedelte es mit dem Schwanze, zuweilen heulte es jämmerlich. In den letzten Versuchstagen erschien es unglaublich abgemagert; man hatte buchstäblich ein nur mit Haut überzogenes Skelett vor sich, so daß alle, die es sahen, erstaunt waren. Die Temperatur war während der ganzen Zeit normal. In Anbetracht dessen, daß der Exitus unbedingt eintreten mußte, wurde es in der 8. Woche durch Verbluten getötet und die Organe zur Untersuchung entnommen. Das andere Versuchshündchen sah zu der Zeit, als das erste Hündchen einging, etwas besser aus; es war noch auf den Füßen, lief einem entgegen, aß Brei, doch sank das Gewicht fortwährend und deutlich. Darauf entwickelte sich

bei ihm allmählich derselbe Zustand wie bei dem vorhergehenden. Es begann mehr zu liegen, bewegte sich ungern von einem Ort zum andern, aß ungern seinen Brei, trank ungern Wasser. Stellte man es auf die Füße, so fiel es vor Schwäche hin. Am 61. Tage seit Beginn der Versuche ging es zugrunde; wir entnahmen die Organe zur Untersuchung. Der Kontrollhund entwickelte sich während dieser Zeit vollkommen normal, nahm fortwährend an Gewicht zu. Am Schlusse der Versuche wurde er durch Verblutenlassen getötet, um die Organe für die Untersuchung zu gewinnen.

Tabelle III.

Gewichtsänderungen der Hunde.

Untersuchungstag	I. Familie			Untersuchungstag	II. Familie						Untersuchungstag	III. Familie			
	Hund Nr. 11 g	Hund Nr. 12 g	Hund Nr. 13 g		Hund Nr. 1 g	Hund Nr. 2 g	Hund Nr. 3 g	Hund Nr. 4 g	Hund Nr. 5 g	Hund Nr. 6 g		Hund Nr. 7 g	Hund Nr. 8 g	Hund Nr. 9 g	Hund Nr. 10 g
28. III.	1800	1350	1650	4. X.	1650	1800	1800	1775	1550	1300	4. X.	825	1050	930	800
9. IV.	2100	1450	1720	7.	1700	2100	2000	1800	1550	getötet	7.	getötet	1000	900	825
21.	2600	1700	1750	11.	1750	2200	2100	1875	1600		11.		1000	875	800
1. V.	2720	1750	2000	16.	1600	2100	2100	1740	1310		16.		1100	735	800
8.	2800	1800	2800	20.	1350	1900	2100	1500	Exitus		20.		1100	Exitus	Exitus
12.	2875	1870	3350	21.	1100	1980	2100	Exitus			23.		1250		
17.	2950	1930	3925	23.	Exitus	2030	2050				26.		1400		
22.	2800	1880	4250	26.		1930	—						getötet		
28.	2600	1700	4600	29.		1850	2050								
31.	2500	1610	4650	1. XI.		1650	2050								
5. VI.	2100	1410	5940	3.		1500	1650								
7.	2000	Exitus				Exitus	Exitus								
9.	1900		6030												
	Exitus														

Die beiden Hündchen Nr. 9 und 10 gingen ungeachtet dessen, daß Phosphate und Glycerophosphate zur Nahrung hinzugesetzt wurden, ziemlich rasch zugrunde; das Phosphate erhaltende Hündchen am 13. Versuchstage, das mit Glycerophosphaten gefütterte am 16. Tage. In Anbetracht des raschen Ausganges war das Bild in diesen Fällen nicht so deutlich ausgesprochen, augenscheinlich waren die Tiere noch zu schwach, um lange mit dem Phosphormangel kämpfen zu können. In jedem Falle kam es auch hier zu rapidem Gewichtsverlust und Kräfteverfall, und die Tiere gingen unter dem gleichen Bilde zugrunde. Der Zusatz von Glycerophosphaten und Phos-

phaten war nicht imstande, einen günstigen Einfluß auf Entwicklung und Gewicht auszuüben. Natürlich können wir uns nicht dafür verbürgen, daß die Tiere unbedingt an Phosphormangel zugrunde gingen. Junge, vor kurzem erst von der Mutter entwöhnte Tiere gehen so oft an unbekannten Ursachen zugrunde, daß sie auch in diesem Falle an irgendeiner uns nicht bekannten Ursache eingehen konnten. Der Wert der Versuche aber leidet keineswegs, selbst wenn wir annehmen, daß der Tod ein zufälliger war. Beide Tiere nahmen ja während der ganzen Zeit (13 und 16 Tage) Brei zu sich und damit auch bedeutende Mengen von Phosphaten und Glycerophosphaten. Ist nun dieser Phosphor für den Organismus assimilierbar, nützlich, so muß er den Organismus anreichern, sich in den Organen ablagern oder zum mindesten den Organismus vor Phosphorverarmung schützen. Die Untersuchung der Organe muß diese Frage auf die eine oder andere Art lösen, d. h. dasjenige bestätigen, was wir nachzuweisen bemüht waren.

Aus der ferneren Darlegung geht hervor, daß diese Hündchen die gegebenen Phosphorverbindungen nicht assimilieren konnten und auf Rechnung des eigenen Phosphors lebten. Zugunsten der Annahme, daß die Ursache ihres Todes eben in dem Phosphormangel zu suchen ist, spricht auch das Resultat des Versuchs am Hündchen Nr. 8. Dieses erhielt im Verlaufe der ersten 8 Tage phosphorarmen Brei; als das Gewicht anfing zu sinken, führte ich es auf Fleisch-Milchdiät über. Während einiger Zeit blieb das Gewicht auf dem gleichen Werte, das Tier begann sich zu erholen und schließlich nahm auch das Gewicht zu. Was den Unterschied zwischen Phosphaten und Glycerophosphaten anbetrifft, so läßt sich nur sagen, daß das Tier, welches Glycerophosphat erhielt, etwas länger lebte. Resümieren wir die Ergebnisse unserer Versuche an dieser Familie, so können wir, basierend auf der Analyse der zu Lebzeiten auftretenden Erscheinungen und der Gewichtsänderungen, sagen, daß die Nahrung für den Tod des Tieres unzweifelhaft von Bedeutung war.

Die Entwicklung des Hündchens Nr. 1 verlief unter dem gleichen Bilde, wie die Entwicklung der Hunde aus der zweiten Familie Nr. 11 und Nr. 12; daher diente dieses Hündchen zur Ergänzung der ersten Versuche. Die Differenz bestand nur

darin, daß die Hündchen dieser Familie ebenfalls jünger waren als die der ersten Familie. Sie gehörten einer größeren Rasse an, daher war ihr Gewicht, ungeachtet ihrer Jugend, bedeutend höher als bei letzteren. Der Hund Nr. 1 lebte 21 Tage. Er ging unter analogen Erscheinungen zugrunde: er magerte allmählich ab, verlor den Appetit für seinen Brei, wurde apathisch und kam unter dem Bilde von äußerster Entkräftung und Gewichtsverlust zum Exitus.

Das Hündchen, Nr. 2, das phosphorarmen Brei erhielt, entwickelte sich anfangs gleichfalls mangelhaft. Ich fing an, ihm Glycerophosphate zu geben, doch sank das Gewicht während dieser Periode noch mehr, das Hündchen war vollkommen geschwächt. Darauf ging ich in der 3. Woche auf Lecithinpräparate von Merck über, wovon ich 3 bis 4 g täglich in Form von Emulsion mit der Nahrung gab. Das Gewicht hörte auf zu sinken, das Hündchen wurde merkbar munterer, bekam Appetit; auch das Gewicht nahm sogar im Verlaufe einer Woche zu, aber schließlich fing es wieder an zu sinken, ungeachtet des Lecithingehaltes der Nahrung. Das Tier magerte wieder ab und krepierte, aber die Abzehrung war geringer. Wie ist dieser Versuch zu deuten? Es unterliegt keinem Zweifel, daß unter dem Einfluß von Lecithin eine zeitweise Besserung ebenso wie Gewichtszunahme erfolgte. Die Ursache dafür, daß schließlich doch Gewichtsverlust und Exitus der Tiere erfolgte, bin ich geneigt darin zu sehen, daß mit der Lecithinfütterung zu spät begonnen wurde. Während einer ganzen Woche wurde das Hündchen nutzlos mit Glycerophosphaten gefüttert, es erschöpfte während dieser Zeit noch mehr seine Vorräte, wurde vollkommen geschwächt; während dieser Zeit konnte das Lecithin bei dem äußerst geschwächten Tiere nur eine temporäre Besserung erzielen, nicht aber dasselbe neu beleben. Hätten wir früher mit der Lecithinfütterung begonnen, so wäre es uns vielleicht gelungen, das Tier zu retten. Im folgenden werde ich zeigen, daß bei diesem Hündchen eine Fermentverarmung stattgefunden hatte, darin lag möglicherweise auch die Ursache seines Todes. In jedem Falle hat auch dieser Versuch nicht an Wert verloren, da die Untersuchung der Organe auf ihren Gehalt an Phosphor und Fermenten eine Reihe interessanter Resultate ergeben hat.

Der Hund Nr. 3 erhielt ausschließlich ganze Kuhmilch. Während der ersten Zeit war seine Entwicklung eine vollständig normale. Es war dies das munterste, wohlgenährteste Hündchen von allen. Sein Gewicht fuhr fort allmählich anzusteigen. Als aber das Gewicht 2100 g erreicht war, erfolgte keine Zunahme mehr und das Gewicht blieb im Verlaufe von 2 Wochen auf diesem Werte stehen. Während dieser Zeit trank das Hündchen wie früher Milch in gewohnter Menge, war munter, nur Wachstum und Entwicklung machten keine Fortschritte. So blieb es ungefähr einen Monat lang. Zu Beginn des 2. Monates fing auch dieses Hündchen an abzumagern, nahm sogar an Gewicht ab, und in der 7. Woche seit dem Anfang des Versuches erfolgte der Exitus; der Ernährungszustand war bis zuletzt ein einigermaßen befriedigender, die Abzehrung erreichte wenigstens nicht die Dimensionen wie bei den Hunden, die mit phosphorarmem Brei ernährt wurden. Dieser Versuch lehrt uns, daß zu der Zeit, wo das Tier auf gemischte Nahrung übergehen müßte, Kuhmilch allein nicht imstande ist, den Bedarf zu decken. Selbst falls dies in der ersten Zeit der Fall ist, so genügt die Milchnahrung dem Organismus später nicht mehr, und es erfolgt ein Stillstand in seiner Entwicklung. Zwar kann das Tier trotz Stillstand in Wachstum und Entwicklung noch eine Zeitlang bei Milchnahrung existieren, aber die Vorräte des Organismus werden augenscheinlich während dieser Zeit aufgezehrt, anders läßt sich die Existenz des Tieres nicht erklären. Freilich unterscheidet sich Kuhmilch stark von Hundemilch, was die Zusammensetzung der Eiweiße, Fette und Salze anbetrifft. Möglicherweise könnten wir das Hündchen bei Ernährung mit Hundemilch unter günstigere Bedingungen versetzen, doch ist eine solche Versuchsanordnung unausführbar. Albuminmilch steht nach dem Bestande an Eiweißen, Fetten und Kohlenhydraten der Hundemilch schon näher, ist aber dafür bedeutend ärmer an Phosphor. Das Hündchen Nr. 4, dem solche Milch gegeben wurde, lebte nur 3 Wochen; es erfolgte Stillstand in der Entwicklung, Gewichtsabnahme und schließlich der Tod. Fügte man, wie beim Hündchen Nr. 5, zu dieser Milch noch Glycerophosphate hinzu, so brachte das keinerlei Nutzen, der Tod erfolgte noch früher, als ohne Zusatz von Glycerophosphaten und unter den gleichen Er-

scheinungen. Diese Tatsachen deuten auf die wichtige Bedeutung des Milchcaseins hin; Ersatz desselben durch Albumin ist für das Tier verderblich. Da nun das Casein eine Verbindung darstellt, die an Phosphor reich ist, und die Ergebnisse der Organuntersuchungen zeigen, daß der Organismus an Phosphor verarmt ist, so müssen wir uns zugunsten dessen aussprechen, daß bei Milchnahrung für die Tiere die Bedingungen des Phosphorhungers eintreten. Darin liegt eine der Hauptursachen für den Tod der Tiere. Dadurch wird natürlich eine ganze Reihe anderer Bedingungen ebenfalls nicht ausgeschlossen.

Beiträge zur Kenntnis der Eiweißumwandlung in der Hefe. I. Über den Einfluß der Zuckergärung auf den Eiweißabbau der Hefe.

Von

W. Zaleski und W. Schataloff.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 23. Juli 1913.)

Die Frage nach den Bedingungen und dem Chemismus des Eiweißabbaus in der Hefe sowie nach den gegenseitigen Beziehungen zwischen diesem Prozesse und der Alkoholgärung ist sehr verwickelt und wenig bekannt, da sie von verschiedenen Seiten und Standpunkten studiert werden kann.

Unsere nächste Aufgabe besteht in dem Studium der obenerwähnten Fragen zuerst an den abgetöteten Hefen, und in der vorliegenden Mitteilung wollen wir nur die Frage nach dem Einfluß der Alkoholgärung auf die Proteolyse berühren. Es fragt sich also, ob und in welcher Weise die Produkte der Zuckergärung auf die Arbeit der proteolytischen Fermente wirken.

Hahn und Geret[1]) haben zuerst nachgewiesen, daß der Alkohol eine hemmende Wirkung auf die Arbeit der proteolytischen Fermente der Hefe ausübt. Die nachteilige Wirkung des Alkohols auf die Proteolyse kann sich nach den Versuchen von L. Iwanoff[2]) nur bei der Konzentration von mehr als $4\,^0/_0$ bemerkbar machen. Der Verfasser behauptet, daß andere Produkte der Alkoholgärung in einer weit geringeren Konzentration antiproteolytisch wirken.

---

[1]) E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903.

[2]) L. Iwanoff, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 464, 1904; Über die Umwandlung des Phosphors in den Pflanzen im Zusammenhang mit dem Eiweißumsatz, 1905 (russisch).

L. Iwanoff hat zuerst nachgewiesen, daß die Gärung der Preßhefe die nachfolgende Proteolyse derselben nachteilig beeinflußt, da sich die Eiweißstoffe der gegorenen Hefe halb so stark wie die der nicht gegorenen zersetzen. So z. B.:

	Eiweißgehalt der Preßhefe	
	vor der Autolyse	nach der 15 stünd. Autolyse
Gegorene Hefe . .	51,15	36,6
Nichtgegorene Hefe	53,55	19,4

Nach der Meinung von Iwanoff bildet die Hefe bei der Zuckergärung antiproteolytisch wirkende Stoffe, da die Energie der autolytischen Eiweißzersetzung der abgetöteten Preßhefe durch den Zusatz der Gärungsflüssigkeit vermindert wird. Die Versuche des Verfassers zeigen, daß die antiproteolytisch wirkenden Stoffe flüchtig sind, da durch das Kochen der vergorenen Flüssigkeit ihre hemmende Wirkung auf die Proteolyse stark vermindert wird. Demgegenüber wird die antiproteolytische Wirkung der Gärungsflüssigkeit durch das Erhitzen derselben auf dem Wasserbade mit Rückflußkühler nicht vernichtet, da diese flüchtigen Stoffe dadurch nicht ausgetrieben werden. Da der Alkohol nach der Bestimmung des Verfassers sich in der Gärungsflüssigkeit in einer solchen Quantität befand, die in keinem Falle die Proteolyse nachteilig beeinflußt, so schließt er daraus, daß den anderen Produkten der Zuckergärung die antiproteolytische Wirkung eigen ist. Iwanoff vermutet, daß Acetaldehyd, den er als ein Nebenprodukt der Alkoholgärung betrachtet, eine hemmende Wirkung auf die Arbeit der Endotryptase der Hefe ausübt. Zugunsten seiner Voraussetzung führt der Verfasser die Versuche von Schwarz[1]) an, der nachgewiesen hat, daß die Verbindungen der Eiweißstoffe mit Acetaldehyd sehr resistent gegen Trypsinverdauung sind. Weiter beobachtete Iwanoff, daß Acetaldehyd schon in 0,006%iger Lösung die Verflüssigung der Thymolgelatine durch die abgetötete Preßhefe hemmt und deswegen antiproteolytisch wirkt. Da nach Duclaux[2]) Acetaldehyd in dieser Quantität bei der Gärung gefunden worden war, so spricht alles dafür, daß gerade diesem Stoffe die antyproteolytische Fähigkeit der Gärungsflüssigkeit eigen ist.

[1]) Schwarz, Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 460, 1900.
[2]) Duclaux, Traité de Microbiologie III.

Wenn dem so ist, so besteht also ein Zusammenhang zwischen der Gärung und dem Eiweißabbau, um so mehr, da Acetaldehyd nach den neueren Anschauungen als intermediäres Produkt der Alkoholgärung betrachtet wird.

Die Annahme von Iwanoff ist schon a priori wenig wahrscheinlich und außerdem unbegründet. Es ist unverständlich, daß Acetaldehyd schon in 0,006%iger Lösung die Proteolyse der Hefe hemmt, während nach Hahn und Geret[1]) Formaldehyd sogar in 0,1%iger Konzentration keine nachteilige Wirkung auf diesen Prozeß ausübt. Weiter hat Iwanoff keinen Beweis angeführt, daß sich Acetaldehyd in der Gärungsflüssigkeit, mit der er experimentierte, befand. Auch hat Iwanoff nicht bewiesen, daß die flüchtigen Stoffe der vergorenen Flüssigkeit, die in seinen Versuchen hemmend auf die Proteolyse wirkten, gerade die Produkte der Alkoholgärung darstellen. Der Verfasser führt einen Versuch an, der zeigt, daß die Gärung der Hefe nicht nur keine hemmende Wirkung auf die nachfolgende Proteolyse derselben ausübt, sondern diese sogar befördert, wenn die Gärung in Gegenwart von sauren Phosphaten vor sich geht. So z. B.:

	Eiweißzerfall der Preßhefe
Nicht gegorene Hefe	54%
Gegorene Hefe ohne KH_2PO_4 . .	28%
„ „ mit „ . .	68%

Wenn Iwanoff behauptet, daß die sauren Phosphate nicht nur die schädliche Wirkung der Gärungsprodukte, also die des Acetaldehyds auf die Proteolyse beseitigen, sondern auch diese befördern, bleibt dennoch in diesem Falle die Rolle des Phosphates unaufgeklärt.

Die Beziehungen zwischen der Gärung und Proteolyse stellen also eine offene Frage dar. Es ist nur bekannt, daß verschiedene Stoffe auf die Zymase und Endotryptase eine umgekehrte Wirkung ausüben. Weiter wissen wir, daß das Zymasesystem, indem es den Zucker vergärt, den Alkohol bildet, der die Proteolyse nachteilig beeinflussen kann. Ob auch andere Produkte der Zuckergärung in derselben Weise wirken, ist zurzeit unbekannt.

Wir haben die Wirkung des Acetaldehyds und zum Vergleich die der anderen Aldehyde auf den Eiweißabbau des

[1]) Hahn und Geret, l. c.

Hefanols und der abgetöteten Preßhefe sowie den Einfluß der Gärung auf die nachfolgende Proteolyse studiert. Weiter haben wir auch die Wirkung der flüchtigen Produkte der Gärungsflüssigkeit auf die Proteolyse des Hefanols untersucht.

In unseren Versuchen wurden die Erlenmeyerkölbchen mit einer bestimmten Menge Wasser und parallel hierzu mit einer solchen Quantität der Aldehydlösung oder der Destillate der Gärnngsflüssigkeit unter Toluolzusatz (4%) beschickt. In jedes Kölbchen wurde eine bestimmte Menge von Hefanol oder Preßhefe gebracht und dann wurden die Gefäße mit Pfropfen verschlossen. Die Versuchstemperatur betrug, wenn keine besonderen Angaben gemacht sind, stets 35°. In anderen Versuchen wurde die Hefe zuerst mit Zucker und verschiedenen Stickstoffverbindungen versetzt und nach 1 bis 2tägiger Gärung direkt oder nach vorherigem Auswaschen und Trocknen in der oben beschriebenen Weise der Autolyse unterworfen.

Der Gesamtstickstoff der Objekte wurde nach Kjeldahl bestimmt. Bei der Eiweißbestimmung wurde der Probeinhalt mit Wasser verdünnt und dann mit Kupferhydroxyd nach Stutzers Methode gefällt. Im Niederschlage wurde der Stickstoff der Eiweißstoffe nach Kjeldahl bestimmt. Außerdem haben wir auch andere Stickstoffverbindungen bestimmt. In diesem Falle wurde das Filtrat des Eiweißniederschlages mit einigen Tropfen Tanninlösung und dann mit Bleiessig versetzt, und der so erhaltene Niederschlag der Albumosen und Peptone wurde vorsichtig ausgewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Das Filtrat des Bleiessigniederschlages wurde zur Ammoniakbestimmung benutzt. Das Ammoniak wurde durch Destillation mit Magnesia unter vermindertem Druck (10 bis 15 mm) bei 40 bis 45° bestimmt.

Versuch 1.[1])

Die Analyse des verwendeten Hefanols

	Menge der Substanz g	N g	N der Substanz %	N des Gesamt-N %
Gesamt-N . . .	0,5	0,0437	8,75	—
Eiweiß-N . . .	0,5	0,0355	7,10	81,15
Pepton-N . . .	0,5	0,0120	0,40	4,57

[1]) Alle in den Versuchen angegebenen Zahlen stellen das Mittel von Doppelbestimmungen dar.

Versuch 2.

8 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm 1. Wasser, 2. 0,05% Acetaldehyd, 3. 0,18% Acetaldehyd, 4. 0,5% Acetaldehyd versetzt. Autolysedauer 3 Tage.

	Eiweiß-N der Portion g	Eiweiß-N der Substanz %	Eiweiß-N des Gesamt-N %
Wasser	0,00870	1,74	19,85
Acetaldehyd 0,05%	0,00839	1,68	19,10
„ 0,18%	0,00985	1,97	22,50
„ 0,50%	0,01209	2,41	27,55

Versuch 3.

4 Portionen der Preßhefe zu je 1 g wurden mit je 20 ccm 1. Wasser, 2. 0,18% Acetaldehyd versetzt. Autolysedauer 2 Tage.

	Eiweiß-N g
Kontrollportion	0,0166
Wasser	0,0089
Acetaldehyd 0,18% . . .	0,0089

Versuch 4.

4 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit 10 ccm 1. Wasser, 2. 0,18% Acetaldehyd versetzt. Ausolysedauer 3 Tage. Temperatur 44°.

	Eiweiß-N der Portion g	Eiweiß-N der Substanz %	Eiweiß-N des Gesamt-N %
Wasser	0,00911	1,82	20,85
Acetaldehyd 0,18%	0,01073	2,14	24,45

Versuch 5.

4 Hefanolportionen zu je 0,5 und 6 g (für Bestimmung von Peptonen und Ammoniak) wurden mit 10 bzw. 60 ccm 1. Wasser, 2. 0,18% Acetaldehyd versetzt. Autolysedauer 4 Tage.

	Eiweiß-N	Pepton-N	NH_3-N
Wasser	0,00753	0,0216	0,0240
Acetaldehyd 0,18%	0,00850	0,0216	0,0132

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Eiweiß-N	Pepton-N	NH_3-N
Wasser	17,14%	4,11%	4,57%
Acetaldehyd 0,18%	19,45%	4,11%	2,85%

Versuch 6.

14 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit 10 ccm der unten folgenden Lösungen versetzt. Autolysedauer 3 Tage.

	der Portion g	Eiweiß-N der Substanz %	des Gesamt-N %
Wasser	0,00870	1,74	19,85
Formaldehyd 0,031%	0,01165	2,33	26,65
„ 0,062%	0,01326	2,65	30,30
Paraldehyd 0,18 %	0,01074	2,14	24,45
Benzaldehyd 0,10 %	0,01107	2,21	25,25
Furfurol 0,10 %	0,00928	1,85	21,15
„ 0,50 %	0,01051	2,10	24,00

Versuch 7.

4 Hefanolportionen zu je 1 g wurden mit 10 ccm 1. Wasser, 2. 0,18% Phenylacetaldehyd versetzt. Autolysedauer 4 Tage.

	der Portion g	Eiweiß-N der Substanz %	des Gesamt-N %
Wasser	0,0150	1,50	17,15
Phenylacetaldehyd 0,18%	0,0210	2,05	22,90

Versuch 8.

6 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit 10 ccm 1. Wasser, 2. der flüchtigen Substanzen der Gärungsflüssigkeit versetzt. Autolysedauer 67 Stunden. Die flüchtigen Stoffe wurden in folgender Weise erhalten. Es wurden 100 g Preßhefe mit 1 Liter 10%iger Saccharoselösung gemischt und nach 2tägiger Gärung wurde die Flüssigkeit abgegossen und in zwei gleiche Teile geteilt. Ein Teil wurde direkt, der andere aber nach Sodazusatz bis zu schwach alkalischer Reaktion abdestilliert.

	der Portion g	Eiweiß-N der Substanz %	des Gesamt-N %
Wasser	0,00908	1,81	20,70
Destillation bei saurer Reaktion	0,01135	2,27	25,95
Destillation bei alkalischer Reaktion	0,01266	2,53	28,90

Versuch 9.

4 Portionen der Preßhefe zu je 15 g wurden mit 150 ccm folgender Lösungen 1. 15% Saccharose + 0,5% Phenylalanin, 2. 15% Saccharose + 0,25% Leucin, 3. 15% Saccharose + 0,15% Tyrosin, 4. 15% Saccharose + 0,5% schwefelsaurem Ammonium versetzt. Nach 2 tägiger Gärung wurde die Flüssigkeit abgegossen und mit derselben Menge Wasser versetzt, um den Überschuß von Alkohol zu vermeiden. Darauf wurde die Flüssigkeit abgegossen, und von der zurückbleibenden breiartigen Hefemasse wurden einige Proben zu je 20 ccm mit der Pipette unter Schütteln abgenommen und der Autolyse unterworfen. Gleichzeitig wurde die Hefe auf dem Filter gesammelt, gut mit destilliertem Wasser ausgewaschen, abgepreßt und im Thermostaten getrocknet. Dann wurden Proben zu 1 g genommen und für die Autolyse benutzt. Beide Reihen von Proben wurden mit Toluol (4%) auf 2 Tage bei 35° gehalten.

	Eiweiß-N		Quantität d. zerfallenen Eiweißes des Eiweiß-N der Kontrollportion
	vor der Autolyse	nach der Autolyse	
	g	g	%
Phenylalanin, nicht getrocknet	0,00770	0,00333	56,8
„ getrocknet . .	0,01840	0,00693	67,9
Leucin, nicht getrocknet . .	0,01090	0,00410	62,4
„ getrocknet	0,02310	0,00905	60,1
Tyrosin, nicht getrocknet . .	0,00924	0,00375	59,4
„ getrocknet	0,02040	0,00820	59,8
$(NH_4)_2SO_4$, nicht getrocknet .	0,00641	0,00375	43,0
„ getrocknet . . .	0,01480	0,00520	64,9

Unsere Versuche zeigen ganz klar, daß Acetaldehyd nicht so stark die Proteolyse der Hefe beeinflußt, wie es Iwanoff vermutet. Nicht nur 0,006%ige Acetaldehydlösung, die nach Iwanoff die Hefeproteolyse hemmt, sondern sogar eine 0,05%ige Konzentration derselben hat keinen Einfluß auf diesen Prozeß. 0,18%ige Acetaldehydlösung übt eine sehr geringe Hemmung der Eiweißzersetzung des Hefanols aus und bleibt ohne Einfluß auf die der Preßhefe. Nur 0,5%ige Acetaldehydlösung hemmt deutlich die Proteolyse, aber weit geringer, als in den Versuchen von Iwanoff mit der Gärungsflüssigkeit. Aber in einer solchen

Menge bildet sich Acetaldehyd während der Gärung der Hefe niemals. In derselben Weise finden wir keine Veränderung in der Bildung der Peptone unter dem Einfluß von Acetaldehyd. Nur bemerken wir in diesem Falle eine geringe Verminderung der Ammoniakbildung.

Von allen Aldehyden wirkt Formaldehyd am schädlichsten auf die Proteolyse, da dieser schon in 0,03%iger Lösung diese nachteilig beeinflußt. Wenn nach Hahn und Geret[1]) 0,1%ige Formaldehydlösung keine hemmende Wirkung auf die Proteolyse ausübt, so erklärt es sich vielleicht dadurch, daß diese Forscher mit dem Hefepreßsafte experimentierten und nicht Gesamteiweiß, sondern nur das koagulierbare Eiweiß bestimmten. Wenn nach Lebedew[2]) Formaldehyd sich bei der Zuckergärung bildet, so ist die Menge desselben zu gering, um die Proteolyse zu hemmen, und außerdem stellt dieser in keinem Falle ein Produkt der normalen Alkoholgärung dar.

Auch andere Aldehyde wirken antiproteolytisch, aber in einer größeren Konzentration. So beeinflußt Furfurol in 0,5%iger Lösung die Proteolyse schwach nachteilig, bei 0,1%iger dagegen ist noch kein Unterschied von dem Ergebnis der Kontrollportion zu verzeichnen. Etwas nachteiliger wirken auf die Proteolyse Benzaldehyd und Phenylacetaldehyd. Dennoch sind diese Aldehyde teils die Produkte der Vergärung der Aminosäuren, teils werden sie durch die Hefe nicht gebildet oder sind in der Gärflüssigkeit in einer solchen Quantität vorhanden, daß sie die Proteolyse nicht hemmen können.

Zwar enthalten die Destillate der Gärungsflüssigkeit (Versuch 8) antiproteolytisch wirkende Stoffe, dennoch haben wir keinen hinreichenden Grund zu behaupten, daß diese Produkte der Alkoholgärung sind. Wir vermuten, daß diese Destillate einige aromatische Stoffe enthalten, die die Proteolyse nachteilig beeinflussen. Dennoch ist die antiproteolytische Wirkung dieser Stoffe weit geringer, als diese in den Versuchen von Iwanoff.

Der letzte Versuch (9) zeigt, daß die Bedingungen der Ernährung der Hefe einen Einfluß auf die nachfolgende Proteolyse derselben haben. So verstärkt die Ernährung der Hefe

[1]) Hahn und Geret, l. c.

[2]) Lebedew, diese Zeitschr. 10, 454, 1908.

mit Aminosäuren die autolytische Eiweißzersetzung derselben. Nach dem Auswaschen der gegorenen Hefe bemerken wir eine Steigerung der Energie der Proteolyse, die aber nicht immer zum Vorschein kommt. Es ist kaum zu behaupten, wie es Iwanoff für Phosphate tut, daß diese Aminosäuren die antiproteolytische Wirkung der Gärungsprodukte beseitigen.

Außer dem Alkohol kennen wir zurzeit kein anderes flüchtiges Produkt der Zuckergärung, das antiproteolytisch wirkt. Dennoch bildet die Hefe antiproteolytisch wirkende Stoffe, deren chemische Natur zurzeit unbekannt ist.

Wenn die Eiweißstoffe der Hefe während der Gärung in reiner Zuckerlösung keine Verminderung erfahren und wenn die Kohlenhydrate die Energie der Eiweißzersetzung schwächen oder sie sogar hemmen, so hängt dies von anderen Ursachen ab, und wir werden später auf diese Frage zurückkommen.

Untersuchungen über den Eiweißaufbau in den Pflanzen.
I. Über den Eiweißaufbau in den Zwiebeln von Allium cepa.

Von

W. Zaleski und W. Shatkin.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 23. Juli 1913.)

Die Aufgabe unserer Untersuchungen besteht in der Aufklärung des Mechanismus des Eiweißaufbaues in verschiedenen Organen der höheren Pflanzen, sowie in einigen niederen Organismen.

Vorläufig wollen wir über den Mechanismus des Eiweißaufbaues in den Zwiebeln von Allium cepa berichten.

Einer von uns[1]) hat schon längst gezeigt, daß beim Austreiben der Zwiebeln von Allium cepa im Dunkeln, sowie nach der Verwundung und während der Winterruhe derselben eine ansehnliche Eiweißsynthese in diesen vor sich geht. Diese Untersuchungen wurden von verschiedenen Forschern[2]) wiederholt und bestätigt. Man konnte vermuten, daß der Eiweißaufbau in den Zwiebeln auf Kosten der Aminosäuren stattfindet, da die Menge der Aminosäureamide während des Versuchs unverändert bleibt.

Jetzt sind wir in der Lage, diesen von einem von uns gegebenen Bericht in mancher Beziehung zu erweitern.

Unsere Versuche wurden mit den keimenden sowie mit den verletzten Zwiebeln ausgeführt. Im ersteren Falle wurde

---

[1]) W. Zaleski, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **16**, 146, 1898; **19**, 332, 1901.

[2]) Prianischnikow, Die Eiweißstoffe und der Umsatz derselben in der Pflanzen, 1899 (russisch); Schröder, Journ. f. experim. Landwirtsch. 1902 (russisch); Friedrich, Centralbl. f. Bakt. II, 21, 330, 1908.

ein Quantum gleichartiger Zwiebeln ausgelesen, die dann in zwei Portionen von gleicher Zwiebelanzahl eingeteilt wurden. Darauf wurde eine dieser Portionen bei 60 bis 70° getrocknet, die andere aber zur Keimung ins Dunkle gebracht. Nach Ablauf des Versuchs wurde auch diese (Versuchsportion) in derselben Weise getrocknet. Im anderen Falle wurde ein Quantum kleiner Zwiebeln mit einem Skalpell in vier gleiche Teile zerschnitten und dann in zwei Portionen, von denen jede zwei Stück aller Zwiebeln enthielt, geteilt. Darauf wurde eine Portion (Kontrollportion) getrocknet, die andere aber in einen dampfgesättigten dunklen Raum auf 4 Tage gebracht. Nach beendigtem Versuche wurde diese Portion getrocknet.

Das getrocknete Versuchsmaterial wurde in eine feine Form gebracht und dann zur Analyse benutzt. Der Gesamtstickstoff wurde direkt nach Kjeldahl bestimmt, da wir keine Nitrate in den Zwiebeln gefunden haben. Die quantitative Bestimmung der Eiweißstoffe wurde nach der Stutzerschen Methode ausgeführt. In den anderen Proben der Substanz wurden zuerst die Eiweißstoffe mit $Cu(OH)_2$ gefällt und darauf wurde das Filtrat mit einigen Tropfen Tanninlösung und dann mit Bleiessig versetzt. Der so erhaltene Niederschlag wurde vorsichtig ausgewaschen und zur Bestimmung des Stickstoffs der Peptone und vielleicht der Albumosen nach Kjeldahl verbrannt. Die Filtrate des Bleiessigniederschlags dienten uns zur Bestimmung des Ammoniaks und der Aminosäureamide. Das Ammoniak wurde durch Destillation mit Magnesia unter vermindertem Druck (10 bis 15 mm) bei 40 bis 45° bestimmt. Die quantitative Bestimmung der Aminosäureamide geschah nach der Sachsseschen Methode. Die organischen Basen wurden aus den ammoniakfreien Filtraten in üblicher Weise mit Phosphorwolframsäure abgeschieden, und dann wurde der Niederschlag vorsichtig ausgewaschen und verbrannt. Die quantitative Bestimmung der Monoaminosäuren wurde nach der von Slyke[1]) ausgearbeiteten Methode ausgeführt. Nach Abzug des dem Asparagin resp. Glutamin entsprechenden Asparagin- resp. Glutaminsäure-Stickstoffs wurde die betreffende Zahl als Stickstoff der gesamten Monoaminosäuren betrachtet.

---

[1]) Slyke, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden 5, 935.

Um eine bestimmte Vorstellung über die Stickstoffverteilung im Eiweißmolekül der Kontroll- und Versuchsobjekte zu gewinnen, haben wir die Eiweißstoffe derselben mit starker Schwefelsäure zersetzt. Zu diesem Zweck wurden die Eiweißstoffe mit 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Darauf haben wir das Ammoniak, die Diamino- und Monoaminosäuren nach der von Hausmann und von anderen Forschern[1]) ausgearbeiteten Methode bestimmt.

Weiter haben wir zur Bestimmung des Ammoniaks der Eiweißstoffe diese auch mit schwacher Salzsäure gekocht[2]), die zur Bestimmung der Säureamide nach der Sachsseschen Methode dient.

Versuch 1[3]).

Versuch mit verletzten Zwiebeln. Die Analysezahlen sind auf 10 g des Trockengewichts der Kontrollportion berechnet.

	Kontrollportion	Versuchsportion
Gesamtstickstoff	0,2060	0,2070
Stickstoff der Eiweißstoffe	0,0860	0,1300
„ „ Peptone	0,0130?	0,0220
„ des Ammoniaks	Spuren	Spuren
„ der Säureamide	0,0350	0,0280
„ „ organischen Basen	0,0050	0,0090
„ „ Monoaminosäuren	0,0670	0,0220

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion %	Versuchsportion %
Eiweißstoffe	41,7	62,8
Peptone	6,3?	10,6
Säureamide	17,0	14,0
Organische Basen	2,4	4,3
Monoaminosäuren	32,5	10,6

---

[1]) Hausmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 75 und 29, 136. — Rothera, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 5, 442. — Gümbel, ibidem S. 297. — Osborne und Harris, Journ. Amer. Soc. 25, 323. — Slyke, l. c.

[2]) Osborne, Leavenworth und Brautlecht, Amer. Journ. of Physiol. 23, 180, zit. nach Chem. Centralbl. 1909, I, 385.

[3]) Alle angegebenen Zahlen bilden das Mittel von Doppelbestimmungen.

Versuch 2.

Versuch mit gekeimten Zwiebeln. Dauer der Keimung 25 Tage. Die Analysezahlen wurden auf 10 g des Trockengewichts der Portionen berechnet.

	Kontrollportion	Versuchsportion
Gesamtstickstoff	0,1815	0,2205
Stickstoff der Eiweißstoffe	0,0805	0,1400
„ „ Peptone	0,0200	0,0195
„ des Ammoniaks	0,0082	0,0065
„ der Säureamide	0,0208	0,0235
„ „ organischen Basen	0,0064	0,0061
„ „ Monoaminosäuren	0,0471	0,0221

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweißstoffe	44,4	63,4
Peptone	11,0	9,0
Ammoniak	4,5	3,0
Säureamide	11,4	10,7
Organische Basen	3,5	2,7
Monoaminosäuren	26,0	10,0

Die Eiweißstoffe der Kontroll- und Versuchsportion, entsprechend 10 g des Trockengewichts, wurden mit 25%iger Schwefelsäure zersetzt.

	Kontrollportion %	Versuchsportion %
Gesamtstickstoffe der Eiweißstoffe	0,0800	0,1350
Ammoniak-N „ „	0,0080	0,0240
Diamino-N „ „	0,0021	0,0032
Monoamino-N „ „	0,0690	0,1010

Vom Stickstoff der Eiweißstoffe fallen auf:

	Kontrollportion %	Versuchsportion %
Ammoniak-N	10,0	17,0
Diamino-N	2,5	2,3
Monoamino-N	86,2	74,9

Vom Gesamtstickstoff der Portionen fallen auf:

	Kontrollportion %	Versuchsportion %
Ammoniak-N der Eiweißstoffe	4,4	10,9
Diamino-N „ „	1,1	1,4
Monoamino-N „ „	38,0	45,7

Die Eiweißstoffe der Kontroll- und Versuchsportion, entsprechend 10 g des Trockengewichts, wurden mit schwacher Salzsäure gekocht.

	Kontrollportion	Versuchsportion
Ammoniak-N	0,0060	0,0053
„ des Eiweißstickstoffs	7,5%	3,8%
„ „ Gesamtstickstoffs	3,3%	2,3%

Aus den obenangeführten Versuchen geht klar hervor, **daß der Eiweißaufbau während der Keimung der Zwiebeln von Allium cepa im Dunkeln sowie nach der Verwundung derselben nur auf Kosten der Monoamiosäuren vor sich geht,** da die Abnahme der Säureamide und des Ammoniaks, sowie die Veränderung der organischen Basen in der Fehlergrenze der Analysen liegen. Die Zwiebeln enthalten Peptone (Polypeptide), die Übergangsglieder zwischen den Aminosäuren und Eiweißstoffen darstellen.

In Übereinstimmung mit den früheren Versuchen des einen von uns[1]), die auch von Prianischnikow[2]) bestätigt wurden, nehmen die Säureamide keinen direkten Anteil am Aufbau der Eiweißstoffe der Zwiebeln. Überhaupt liegen keine Gründe vor, um anzunehmen, daß die Säureamide, wie Asparagin und Glutamin, unmittelbar (ohne vorherige Spaltung) am Aufbau der Eiweißstoffe teilnehmen. Zwar behauptet Friedrich[3]), daß nach der Verwundung einiger Objekte der Eiweißaufbau in diesen auf Kosten der Säureamide vor sich geht, dennoch sprechen seine Versuche nicht zugunsten dieser Meinung. Im einen Falle hat dieser Forscher die Säureamide unrichtig in Prozenten des Gesamtstickstoffs berechnet, im anderen aber liegt die Abnahme dieser Stoffe während des Versuchs in der Fehlergrenze der Analyse. Nur in einigen Versuchen hat Friedrich eine geringe Abnahme der Säureamide nachgewiesen, dennoch findet der Verbrauch dieser Stoffe ohne gleichzeitige Zunahme der Eiweißstoffe statt.

Die Säureamide können das Material für den Aufbau der Eiweißstoffe liefern. [So hat einer von uns[4]) nachgewiesen, daß die Säureamide während der Eiweißbildung in den nachreifen-

[1]) W. Zaleski, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **16**, 146.
[2]) Prianischnikow, l. c.
[3]) Friedrich, l. c.
[4]) W. Zaleski, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **1905**.

den Samen von Erbsen verbraucht werden. Wir meinen, daß in diesem Falle die Säureamide indirekt am Aufbau der Eiweißstoffe teilnehmen.

Wir schließen uns der Meinung von Mercadante[1]) an, der auch andere Forscher[2]) beistimmen, daß die Säureamide eine Art Reservestoffe der Eiweißbildung darstellen und nur nach der vorläufigen Spaltung für den Aufbau dieser Substanzen verwendet werden. In dieser Form wird die Asparagin- und Glutaminsäure, die in einigen pflanzlichen Eiweißstoffen in einer ziemlich bedeutenden Menge vorhanden sind, sowie das Ammoniak aufgespeichert.

Es entbehrt auch aller und jeglicher Grundlage[3]), daß die höheren Pflanzen Eiweißstoffe direkt aus Ammoniak aufbauen können, da dieses nur das Material zur Bildung anderer Stickstoffverbindungen darstellt. In den Zwiebeln von Allium cepa stellt Ammoniak keinen konstanten Bestandteil dar. So haben wir in den kleinen Zwiebeln kein Ammoniak gefunden, in den größeren aber eine merkliche Menge desselben nachgewiesen, was mit den früheren Bestimmungen des einen von uns[4]) übereinstimmt. In diesem Falle stellt Ammoniak eine Art der Reservestoffe der Eiweißbildung dar und wird zunächst zur Bildung der Aminosäuren verwendet. In der Tat hat einer von uns[5]) einen fermentativen Ammoniakverbrauch im Preßsafte aus Zwiebeln von Allium cepa nachgewiesen.

Die während der Keimung der Zwiebeln gebildeten Eiweißstoffe sind reicher an Ammoniak, als die der ungekeimten. Daher enthalten die Eiweißstoffe der gekeimten Zwiebeln nicht nur prozentual, sondern auch absolut eine größere Menge des durch die Säurehydrolyse als Ammoniak abspaltbaren Stickstoffs. Da wir bei der Hydrolyse der Eiweißstoffe nach der

---

[1]) Mercadante, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 8, 1875.

[2]) Schulze, Landw. Jahrb. 7, 411, 1878. — Butkewitsch, diese Zeitschr.

[3]) Loew, Die chemische Energie der lebenden Zelle 1906, 2. Aufl. — Pfeffer, Pflanzenphysiologie 1, 2. Aufl. — Butkewitsch, l. c.

[4]) W. Zaleski, Die Bedingungen der Eiweißbildung in den Pflanzen 1900 (russisch). Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 25, 357, 1907.

[5]) W. Zaleski, l. c.

Osborneschen Methode[1]) eine gleiche Menge Ammoniak in den Proteinstoffen der gekeimten und ruhenden Zwiebeln nachgewiesen haben, so ist kaum zu behaupten, daß die Eiweißstoffe der gekeimten Zwiebeln reicher am präformierten Ammoniak oder Säureamidstickstoff sind. Es ist möglich, daß ein gewisser Überschuß des Ammoniaks sich auf Kosten der nicht widerstandsfähigen Aminosäuren bildet, die in den Eiweißstoffen der gekeimten Zwiebeln in einer größeren Menge als in den der ruhenden Zwiebeln vorhanden sind.

Es ist auffallend, daß die Zwiebeln zum Aufbau der Eiweißstoffe die Diaminosäuren nicht verwenden. Diese Tatsache steht aber ganz im Einklang mit dem Charakter der Eiweißstoffe der Zwiebeln. Ungeachtet der Eiweißzunahme während der Keimung enthalten die Eiweißstoffe der gekeimten Zwiebeln nicht nur prozentual, sondern auch absolut eine gleiche Menge Diaminosäuren wie die ruhenden.

Es lagern sich also während des Eiweißaufbaues der Zwiebeln die fertigen Monoaminosäuren an die schon vorhandenen Eiweißstoffe, wodurch diese an jenen angereichert werden.

In den keimenden Zwiebeln von Allium cepa geht also im Dunkeln nicht die Neubildung, d. h. die Vermehrung der Eiweißstoffe, sondern nur das Wachstum derselben vor sich, und wir müssen zwei Typen des Eiweißaufbaues im Organismus unterscheiden, indem wir unter diesem gewöhnlich nur die Zunahme des Eiweißstickstoffs verstehen.

[1]) Diese Methode besteht in der Hydrolyse der Eiweißstoffe durch die schwache Salzsäure, die man zur Asparaginbestimmung verwendet.

Über die Vergärung der Brenztraubensäure durch Bakterien. I.

Von

L. Karczag und L. Móczár.

(Aus dem II. Pathologisch-anatomischen Institut der Kgl. Universität zu Budapest.)

(Eingegangen am 23. Juli 1913.)

I.

C. Neuberg und Mitarbeiter[1]) haben unter dem Namen „zuckerfreie Gärungen" die merkwürdige Erscheinung beschrieben, daß eine Reihe von Substanzen ohne Zugehörigkeit zur Zuckergruppe in lebhafte Gärung geraten, sobald man sie mit Hefezellen in Berührung bringt.

Wir hofften, ähnliche Prozesse wie bei der Hefegärung zu beobachten, indem wir in systematisch durchgeführten Experimenten die pathogenen Bakterien mit einer der Substanzen in Berührung gebracht haben, die sich zum Studium der zuckerfreien Gärungen als die klassischste erwies: mit der Brenztraubensäure.

Das Unternehmen dieser Untersuchungen war biologisch auch deshalb indiziert, weil sich unter den pathogenen Mikroorganismen eine Anzahl findet, die mit den Hefezellen ein gemeinsames Merkmal aufweisen, nämlich die Vergärung des Traubenzuckers unter Gasbildung. Andererseits schienen uns die Untersuchungen auch deshalb von Interesse, weil eine Anzahl biochemischer und physiologischer Arbeiten manche interessanten Beziehungen zwischen der Brenztraubensäure und den Kohlenhydraten erbrachten (C. Neuberg, P. Mayer, P. Rona).

---

[1]) Die gesamte Literatur s. bei C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Monographie 1913 bei G. Fischer, Jena.

Wir möchten einige Resultate unserer Untersuchungen herausgreifen und mit Hinweis auf die bereits oben erörterten Beziehungen zwischen Brenztraubensäure und Kohlenhydraten erwähnen, daß es uns geglückt ist, den biologischen Beweis dafür zu liefern, daß die Brenztraubensäure den Traubenzucker in energetisch-chemischer Beziehung vollkommen zu ersetzen vermag, da die Brenztraubensäure auch durch diejenigen Mikroorganismen unter Gasabspaltung zerlegt worden ist, die den Traubenzucker unter ähnlichen Phänomenen angreifen.

Ganz besonders wichtig ist die Spezifizität dieser Tatsache, da die Brenztraubensäure nur von zuckerspaltenden Bakterien verbraucht und zerlegt wurde: nämlich durch Bacterium coli, Paratyphus B, Bacterium enteritidis Gaertner und von keinen anderen. Zur Illustration des bereits Gesagten möchten wir zunächst in Tabelle I die von uns untersuchten Bakterien auf ihr Vermögen, Brenztraubensäure und Zucker zu vergären, zusammenstellen.

Tabelle I.

Nr.	Name des Bacteriums	Brenztraubensäure	Traubenzucker
1	Bacterium coli	Gasbildung	Gasbildung
2	„ Paratyphi B	do.	do.
3	„ enteritidis Gaertner . . .	do.	do.
4	„ Typhi	—	—
5	Bacillus dysenteriae Flexner	—	—
6	„ „ Shiga-Kruse . .	—	—
7	Streptokokkus	—	—
8	Staphylokokkus	—	—

Es gelang uns somit einerseits, einen neuen Beweis dafür zu erbringen, daß die Bakterien ohne Anwesenheit von Zucker eine bestimmte Kohlenstoffverbindung unter Gasabspaltung zerlegen, andererseits spezifische biologische Beziehungen zwischen der Brenztraubensäure und Traubenzucker zu entdecken und dadurch eine neue Lebenseigenschaft der Bakterien kennen zu lernen, deren Äußerung uns in differentialdiagnostischer Hinsicht, wie darauf an einer anderen Stelle eingegangen werden soll, wichtige Dienste leisten wird.

II.

Was die Methodik der Prüfung der Bakterien auf ihr Gärungsvermögen betrifft, so muß zunächst auf die Zusammensetzung des Nährsubstrates eingegangen werden. Als solches verwendeten wir die vorschriftsmäßig hergestellte Nährbouillon, der gegen Schluß der Herstellung die reine Brenztraubensäure zugefügt wurde. Eine Anzahl besonderer Versuche sowohl im Gärungsröhrchen wie im hängenden Tropfen ergaben, daß das Optimum der Konzentration der Nährbouillon an Brenztraubensäure bei 0,2 % liegt.

Die Bakterien, die in Reinkulturen gezüchtet waren, wurden täglich abgeimpft, und es kamen stets 16 bis 20stündliche virulente Kulturen zur Verwendung.

Die Brenztraubensäure wurde unter den üblichen aseptischen Kautelen in die Schröterschen Gärungsröhrchen gebracht, dann aus der Reinkultur mit einer Platinöse abgeimpft und schließlich durch vorsichtiges Hin- und Herneigen des Gärungsröhrchens mit Hilfe einer Luftblase für eine gute Verteilung der Bakterien gesorgt. Die Gärungsröhrchen kamen dann mit den entsprechenden Kontrollen in den Thermostaten, und die Besichtigung der Proben bzw. die Ablesung der entwickelten Gasmengen geschah dann im bestimmten Zeitabständen.

Wir möchten in der nächsten Tabelle II aus unseren zahlreichen Experimenten als Durchschnittszahlen die abgelesenen Gasmengen angeben, die Bact. coli, Paratyphus B und Bact. enter. Gaertner in der angegebenen Zeit aus der 0,2 %igen Brenztraubensäurebouillon entwickelten.

Tabelle II.

Probe	6—10 Std.	10—20 Std.	20—26 Std.
Brenztraubensäurebouillon + Coli .	0,5—2,5	2,5—4,0	4,0—4,5
do. + Paratyphus B .	0,5—2,5	2,5—4,0	4,0—4,5
do. + enter. Gaertner	0,0—0,5	0,5—2,0	2,0—4,0
do. allein	—	—	—
Nährbouillon + Coli	—	—	—
do. + Paratyphus B . .	—	—	—
do. + enter. Gaertner . .	—	—	—
do. allein	—	—	—

Wir möchten bezüglich der Gärungen und über die einzelnen Bakterien aus unseren Beobachtungen und Erfahrungen folgendes Resümee ziehen.

Bacterium coli. Es läßt sich im allgemeinen eine Inkubationszeit von 6 bis 8 Stunden beobachten; zuweilen setzt aber die Gärung erst nach ca. 10 Stunden ein. Nach Ablauf dieser Zeit erreicht die Gärung nach weiteren 12 Stunden ihren Höhepunkt, um dann im ganzen nach 20 bis 26 Stunden abgelaufen zu sein.

Paratyphus B. Die Gasbildung, sowohl bezüglich der Quantität wie Geschwindigkeit der Abspaltung, erfolgt wie bei Bact. coli.

Bacterium enteritidis Gaertner. Die Geschwindigkeit der Gasentwicklung ist bedeutend langsamer wie bei Bact. coli und Paratyphus B. Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, vergären Coli und Paratyphus die Brenztraubensäure, besonders in den ersten 6 bis 12 Stunden, faßt mit der doppelten Geschwindigkeit wie Bact. enter. Gaertner. Es ist natürlich, daß diese Unterschiede binnen der ersten 6 bis 12 Stunden am augenfälligsten sind, da ja die Proben der Gaertnerschen Bakterien nach längerem Stehenlassen die Differenzen allmählich nachholen, da inzwischen die Gärung der anderen Proben teils verlangsamt, teils abgelaufen ist.

In einer Reihe von Untersuchungen haben wir auch die Alkalisalze der Brenztraubensäure auf ihre Vergärbarkeit durch Bakterien geprüft. Die Lösungen wurden zuerst durch sorgfältige Neutralisation der freien Brenztraubensäure hergestellt und dann, um den Angriff der Substanz für die Bakterien zu erleichtern, mit einer Spur Brenztraubensäure angesäuert. Diese Standardlösung wurde dann mit der Nährbouillon in einem Verhältnis gemischt, die einer $0{,}2\,\%$igen Lösung der brenztraubensauren Salze in der Nährbouillon entsprach.

Es hat sich aus diesem Experimente im großen und ganzen dasselbe ergeben, wie bei der Vergärung der freien Brenztraubensäure in der Bouillonlösung durch Bakterien. So fanden wir, wie aus Tabelle III ersichtlich, daß die Kalisalze ebenfalls nur von Coli, Paratyphus B und Bact. enter. Gaertner vergoren wurden, während sie von anderen keine sichtbare Veränderung erfuhren. Jedoch sind hier die Differenzen bezüglich der Geschwindigkeit der Gasabspaltung durch Coli und Paratyphus B gegenüber dem Gaertnerschen Bacillus nicht so ausgeprägt wie bei der Vergärung der freien Säure.

Tabelle III.

Probe	8 Std.	12 Std.	18 Std.	32 Std.
Brenztraubensäure-Kali + Bouillon + Coli	1,0—2,0	2,0—4,0	—	—
do. + Paratyphus B	1,0—2,0	2,0—4,0	—	—
do. + enter. Gaertner	0,0—1,5	1,5—3,0	3,0—4,0	—
do. + Typhus	—	—	—	—
do. + dysent. Flexner	—	—	—	—
dd. + dysent. Shiga-Kruse	—	—	—	—
dd. + Streptokokkus	—	—	—	—
dd. + Staphylokokkus	—	—	—	—
Kontrollen: Nährbouillon + Coli	—	—	—	—
Kontrollen: do. + Paratyphus B	—	—	—	—
Kontrollen: do. + enter. Gaertner	—	—	—	—

III.

Wir haben es nicht unterlassen Experimente anzustellen, um uns über die relative Gärungsenergie der Bakterien zu orientieren. Wir haben daher zunächst ohne Rücksicht auf die Qualität der gasförmigen Produkte vergleichende Versuche unter denselben Bedingungen wie mit den Bakterien auch mit frischer Hefe angestellt[1]). Um kommensurable Zahlen zu erhalten, haben wir natürlich die Hefezellen in die Kulturflüssigkeit in einer Menge abgeimpft, die der Menge der zugesetzten Bakterien approximativ entsprach, d. h. eine Platinöse voll. Wir erhielten dabei das merkwürdige Resultat, daß die Bakterien die Brenztraubensäure und ihre Salze mit einer viel größeren Energie angreifen wie die Hefe. Dies geht aus Tabelle IV ohne weiteres klar hervor.

Tabelle IV.

Probe	8 Std.	12 Std.	20 Std.
Brenztraubensäurebouillon + Coli	1	2,5	4,0
do. + Paratyphus	1	2,0	4,0
do. + enter. Gaertner	Spur	1,0	3,0
do. + Hefe	—	Spur	1,5
Kontrolle: Nährbouillon + Coli	—	—	—
Kontrolle: do. + Paratyphus	—	—	—
Kontrolle: do. + enter. Gaertner	—	—	—
Kontrolle: do. + Hefe	—	—	—

[1]) Wir haben davon abgesehen, die Versuche mit Hefereinkulturen anzusetzen, da ja die Brenztraubensäure durch Zellen der frischen Preßhefe vorzüglich vergoren wird.

Es soll an dieser Stelle erwähnt werden, daß wir ähnliche vergleichende Versuche mit Traubenzucker angestellt haben, und daß wir hierbei ähnliche Resultate erhielten. Die Versuche, die mit einer 0,2%igen Traubenzuckerbouillonlösung angestellt wurden, ergaben, wie aus Tabelle V ersichtlich ist, daß der Traubenzucker durch Hefe trotz des üppigen Wachstums langsamer angegriffen wird als durch die Bakterien. Also auch hier eine auffallende Parallelität zwischen Brenztraubensäuregärung und Zuckergärung durch Bakterien!

Tabelle V.

Probe	20 Std.	32 Std.	38 Std.
Traubenzuckerbouillon + Coli . . .	3,0	4,5	—
do. + Paratyphus	3,0	4,0	—
do. + enter. Gaertner . .	2,5	4,0	—
do. + Hefe	0,0	1,0	2,5

Die vergleichenden Versuche über die Vergärung der Alkalisalze durch Bakterien und Preßhefe haben das gleiche Resultat ergeben wie mit den freien Säuren.

Inwiefern diese Erscheinungen mit der Größe der Fermentproduktion der Bakterien oder mit ihrer vitalen Energie und Pathogenität zu tun haben, bleibt zunächst eine offene Frage. Wir haben aber dafür Anhaltspunkte liefern können, daß die Bakteriengärung der Brenztraubensäure und ihrer Salze eine viel energischere ist als die Hefegärung derselben Substanzen.

IV.

Über die sich abspielenden chemischen Vorgänge bei der Vergärung der Brenztraubensäure durch Bakterien möchten wir im folgenden berichten.

Die große Übereinstimmung und Analogie der von uns beobachteten Gärungsphänomene mit den „zuckerfreien Gärungen“ Neubergs haben uns a priori zu der Annahme geführt, daß wir es bei der Bakteriengärung der Brenztraubensäure ebenfalls mit Carboxylasewirkung zu tun haben. Wie bereits Neuberg und Karczag[1]) festgestellt haben, verläuft

[1]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. **36**, 68, 1911; **36**, 76, 1911.

die Gärung der Brenztraubensäure unter Einwirkung der von ihnen entdeckten Hefecarboxylase nach der einfachen Gleichung:

$$CH_3.CO.COOH = CH_3.COH + CO_2,$$

wobei also die Substanz glatt in Kohlensäure und Acetaldehyd zerfällt. Andererseits haben die genannten Autoren festgestellt, daß die Alkalisalze der Brenztraubensäure nach folgender Gleichung zersetzt werden:

$$2\,CH_3.CO.COOK + H_2O = 2\,CH_3.COH + CO_2 + K_2CO_3,$$

d. h. ebenfalls in Kohlensäure und Acetaldehyd bei gleichzeitiger Alkalibildung.

Das charakteristischste Produkt der Hefegärung der Brenztraubensäure, den Acetaldehyd, haben wir in der Annahme einer Bakteriencarboxylase ebenfalls als ein Produkt der Bakteriengärung erwartet. Wir haben den Acetaldehyd durch geeignete Mittel, wie fuchsinschweflige Säure, die wir in vorschriftsmäßiger[1]) Konzentration zur Brenztraubensäurebouillonlösung gegeben haben, färberisch nachzuweisen gesucht. Diese Versuche sind ebenso ergebnislos verlaufen wie die Versuche eines direkten chemischen Nachweises bzw. Isolierung des Acetaldehyds aus dem Gärgute selbst. Das gänzliche Fehlen des Acetaldehyds war schon ein Zeichen dafür, daß die Brenztraubensäure durch Bakterien eine Veränderung erlitt, die von der Veränderung, die diese Substanz durch Hefe erleidet, biologisch und chemisch zu unterscheiden ist.

Die Untersuchung der gasförmigen Produkte ergab überraschenderweise, daß die Vergärung der Brenztraubensäure durch Bakterien auch bezüglich der entstandenen Gärungsgase nichts Gemeinsames mit der Hefegärung an sich hat. Die chemische Analyse der gasförmigen Bestandteile ergab, daß diese der Hauptmenge nach, bis zu ca. 90 %, aus Wasserstoff bestehen, und nur bis zu ca. 10 % aus Kohlensäure[2]).

Zu diesem Zwecke wurden die entwickelten Gase aus den Gärungsproben, die mit freier Brenztraubensäure angestellt

[1]) Ende, Centralbl. f. Bakt. Abt. I, 1903, Nr. 35, S. 109.

[2]) Bei der Ausführung der Analysen hat uns Herr Dipl.-Ing. H. Klein eine gefällige Hilfe geleistet, wofür wir ihm auch an dieser Stelle bestens danken.

wurden, in einem neu konstruierten Apparat gesammelt, der sich, ohne irgendeine Gefahr für den Experimentator bei Anwesenheit pathogener Mikroorganismen zu bieten, zum Sammeln selbst kleinster Gasmengen gut bewährt hat. Der eine von uns wird die Beschreibung des Apparates an anderer Stelle veröffentlichen.

Die Analysenzahlen geben somit einen Durchschnitt von mehreren entwickelten Gärungsgasen an. Wir haben zunächst quantitativ nur die Gase eines einzigen Bacteriums untersucht, nämlich die des Bact. coli. Wir haben aber nie unterlassen, qualitative Gasanalysen auch bezüglich der von Bact. coli, Paratyphus B und Bact. enter. Gaertner entwickelten Gase sowohl bei Anwendung von freier Brenztraubensäure wie ihrer Alkalisalze anzustellen. Diese Untersuchungen haben uns dasselbe Resultat geliefert wie die quantitative Untersuchung der Gärungsgase des Bact. coli, d. h., daß das Hauptprodukt aus Wasserstoff besteht.

Es sei hier noch fernerhin erwähnt, daß die Reaktion des Mediums bei der Vergärung der Brenztraubensäurealkalien durch Bakterien im Gegensatz zur Hefegärung nicht ins alkalische umschlägt, sondern neutral bleibt.

Die Vergärung der Brenztraubensäure gehört somit zu den komplizierten Gärungen, zum Unterschied von der Hefegärung dieser Substanz. Die chemische Untersuchung des Gärgutes nach der bereits geschilderten Methode des einen von uns[1]) hat diese Annahme nur bestätigen können. Es gelang uns, sowohl in der Destillationsflüssigkeit wie im Ätherextrakt des Gärgutes eine Anzahl flüchtiger Fettsäuren, wie Propion- und Buttersäure, nachzuweisen, die mit der Brenztraubensäure in genetischem Zusammenhange stehen, der bereits auch von Karczag[1]) schematisch angedeutet wurde.

Inwieweit bei diesen Untersuchungen die chemische Beschaffenheit der Nährbouillon als störender Faktor in Betracht kommt, bleibt zunächst unentschieden. Trotzdem ist es aber nicht zu verkennen, daß bei der Bakteriengärung der Brenztraubensäure starke Reduktionsprozesse im Vordergrunde stehen.

---

[1]) L. Karczag, diese Zeitschr. **43**, 44, 1912.

Ein besonders charakteristisches Produkt, das geeignet wäre, über die Natur des Gärungsvorganges ein einheitliches Bild zu liefern, haben wir vorderhand nicht finden können. Die Untersuchungen sind nicht abgeschlossen und werden in verschiedenster Richtung fortgesetzt. Wenn auch eine biologische und biochemische Erklärung dieser Phänomene noch fehlt, so möchten wir doch darauf hinweisen, daß es nicht ausgeschlossen erscheint, daß Gärungen mit kleinen Zellmassen, aber mit besonders virulenten, in Wachstum und Vermehrung begriffenen jugendlichen Zellen prinzipiell anders verlaufen können als mit großen Massen und älteren Kulturen, und daß sich dadurch die beobachteten Unterschiede zwischen Bakteriengärung und Hefegärung der Brenztraubensäure erklären ließen.

Über den Tryptophangehalt normaler und pathologischer Hautgebilde und maligner Tumoren.

Von

Hugo Fasal.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig-Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 27. Juli 1913.)

In unserer Abhandlung über den Tryptophangehalt der Horngebilde und anderer Eiweißkörper[1]) haben wir gezeigt, daß es mittels eines colorimetrischen Verfahrens gelingt, in vielen verschiedenen Eiweißkörpern den Tryptophangehalt zu bestimmen. Die Methodik war bei manchen Eiweißkörpern in der angegebenen Art nicht gut durchführbar, da neben dem violetten Ton der eigentlichen Tryptophanreaktion oft ein störender braunroter Farbenton auftritt, der dem genauen colorimetrischen Vergleiche im Dubosqschen Colorimeter hinderlich ist. Wir versuchten nun, die colorimetrische Methode bei der quantitativen Tryptophanbestimmung zu verbessern und das mit Glyoxylsäure und konzentrierter Schwefelsäure erhaltene gefärbte Reaktionsprodukt auszuschütteln. Wir versuchten dies mit Äther, Chloroform, Benzol, Toluol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff, Essigäther, die nicht imstande waren, die Reaktionsprodukte aufzunehmen; nur Amylalkohol nahm es auf, zeigte aber den Nachteil, daß die Farbe sich alsbald änderte. Wir haben daher einen anderen Weg eingeschlagen, um über die Schwierigkeit der Messung von Reaktionsprodukten mit verschiedenen Farbennuancen im Colorimeter hinwegzukommen. Es erwies sich hierbei der Apparat, den S. P. L. Sörensen in

[1]) Fasal, Über eine colorimetrische Methode der qantitativen Tryptophanbestimmung und über den Tryptophangehalt der Horngebilde und anderer Eiweißkörper. Diese Zeitschr. **44**, 392.

seinen Enzymstudien[1]) angibt, sehr gut verwendbar. Er benutzte zum Vergleich verschiedenfarbiger Lösungen Reagensglasgestelle, deren 35 bis 40° gegen den wagerechten Plan geneigter Boden mit einem Blatt reinen weißen Papiers bedeckt ist, und die so eingerichtet sind, daß eine Drehung des Gestelles von 35 bis 40° um dessen Längsachse es ermöglicht, quer durch die gesamten vorliegenden Reagensgläser gegen das weiße Papier als Hintergrund frei und unbehindert zu sehen. Man kann so die Farbenstärke der verschiedenen Lösungen und die verschiedenen Konzentrationen miteinander vergleichen, wenn auch andere Farbennuancen vorhanden sind, die den Vergleich im Colorimeter nicht zulassen. Auch beim Vergleich der Farblösungen im Sörensenschen Gestell konnten wir dadurch eine bedeutende Verbesserung erzielen, daß wir die zu vergleichenden Lösungen durch eine vorgeschaltete Lösung von Smaragdgrün betrachteten, indem wir eine mit einer Smaragdgrünlösung gefüllte flache, ca. 2 cm breite Cuvette vor den Apparat stellten. Durch dieses Farbenfilter verschwand zum großen Teil der rotbraune Farbenton, und wir konnten den Gehalt an Tryptophan durch die verschiedene Intensität der blauvioletten Färbung besser konstatieren.

Wir hatten nun die Wahl, entweder im Dubosqschen Colorimeter oder im Sörensenschen Reagensglasgestell unsere Messungen vorzunehmen, je nachdem welcher Apparat für den betreffenden Effekt zweckmäßiger war. Durch diese Technik hat unsere Methodik eine vielfach erweiterte Anwendungsmöglichkeit gefunden.

Wir haben nun im Anschluß an unsere Untersuchungen über die Spaltungsprodukte der Horngebilde[2]) die Spaltungsprodukte normaler und pathologischer Hautgebilde studiert, und zwar orientierten wir uns zuerst über die Trytophanmengen in diesen Gebilden.

Die ersten Untersuchungsserien, die wir in Angriff nahmen, betrafen die abgeschabte Epidermis normaler Haut und Psoriasisschuppen. Das Untersuchungsmaterial wurde mit Wasser, Alkohol und Äther gereinigt und zur Gewichtskonstanz im Thermostaten bei 100° getrocknet.

---

[1]) Diese Zeitschr. 21, 202.

[2]) Fasal, Beiträge zur Chemie der Verhornung. Vortrag gehalten auf dem Intern. Kongr. f. Dermatologie in Rom, 8. bis 13. April 1912.

Abgeschabte Epidermis normaler menschlicher Haut.

0,01 g wird mit 2 ccm Glyoxylsäure und 6 ccm Schwefelsäure versetzt und zeigt deutliche Tryptophanreaktion, die im Apparat von P. Sörensen der Tryptophanreaktion von 1:20000 entspricht.

$$0{,}01 : 0{,}00005 = 100 : x$$
$$x = 0{,}5.$$

Es enthält also die abgeschabte Epidermis 0,5% Tryptophan.

Subcutis.

Die restierende Subcutis zeigte bei der gleichen Behandlung kaum eine Spur von Tryptophanreaktion, deren Empfindlichkeit ja so groß ist, daß sie bei einem Tryptophangehalt einer Lösung von 1:100000 deutliche rotviolette Färbung gibt.

Psoriasisschuppen

wurden im kalten Wasser gereinigt, mit absolutem Alkohol ausgekocht, mit Äther durch 24 Stunden im Soxhlet extrahiert, im Thermostaten bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,02 g wurden mit 2 ccm Glyoxylsäure und 6 ccm Schwefelsäure versetzt, nach ca. 1 Stunde war die Reaktion am deutlichsten. Später nahm der bläuliche Farbenton ab und es dominierte die rotbraune Farbe. Die Reaktion von 0,02 g entsprach im Apparat von Sörensen der Tryptophanreaktion 1:12000.

$$0{,}02 : 0{,}00083 = 100 : x$$
$$x = 0{,}41.$$

Psoriasisschuppen enthalten daher 0,41% Tryptophan.

Der Tryptophangehalt beträgt also in:

Verhornte Oberhaut . . .	0,3%
Abgeschabte Epidermis . .	0,5%
Subcutis	0%
Psoriasisschuppen	0,41%.

Wenn wir diese Untersuchungsergebnisse mit den Untersuchungen über den Tryptophangehalt der verhornten Oberhaut vergleichen, so sehen wir, daß der Unterschied im Tryptophangehalt der abgeschabten Epidermis und der verhornten

Oberhaut, sowie der Psoriasisschuppen nicht sehr groß ist, besonders wenn man in Erwägung zieht, daß wohl die Tryptophanbestimmung der verhornten Oberhaut mit dem großen Colorimeter von Dubosq quantitativ genau ist, daß dagegen die Bestimmung des Tryptophangehaltes in den Psoriasisschuppen und in der abgeschabten Epidermis wegen der oben erwähnten verschiedenen Farbennuancen nicht diesen Grad von Genauigkeit besitzt und die Farbendifferenzen der Adamkiewicz-Hopkinsschen Reaktion im Apparat von Sörensen festgestellt wurden. Diese verhältnismäßig geringen Unterschiede im Tryptophangehalt entsprechen auch dem Umstande, daß pathologisch-anatomisch verhornte Oberhaut, abgeschabte Epidermis und Psoriasis einander nahestehen.

Maligne Neoplasmen.

Im Verlaufe unserer Untersuchungen über pathologische Hautgebilde, insbesondere Hauttumoren, konnten wir schon anläßlich einer Demonstration[1]) auf ein auffallendes Verhalten des Tryptophangehaltes in verschiedenen Tumoren aufmerksam machen. Unsere weiteren Untersuchungen bestätigten die Beobachtung, daß maligne Tumoren in bezug auf ihren Tryptophangehalt deutliche Unterschiede vom normalen Gewebe teils nach der einen, teils nach der anderen Richtung zeigten. Während wir damals den Tryptophangehalt in konservierten Geschwülsten untersuchten, setzten wir unsere Untersuchungen nun an frischem Material fort. Dazu veranlaßte uns insbesondere die Beobachtung, daß die Tryptophanreaktion durch reichliche Formalinzufügung zerstört wird, während bekanntlich geringe Mengen von Formalin sogar die Glyoxylsäure bei der Reaktion ersetzen können, und wir nicht absolut sicher waren, ob nicht die konservierten Tumoren früher in Formalin gelegen waren.

Die nächste Serie von Untersuchungen betraf Tumoren der Haut, insbesondere Hautkrebs. Es war nicht leicht, frisches Material zu erhalten, da größere zusammenhängende Hauttumoren notwendig waren, um reines Carcinomgewebe zu erhalten.

---

[1]) K. k. Gesellschaft der Ärzte in Wien, 10. Juni 1912. Wiener klin. Wochenschr. 1912, Nr. 27.

Plattenepithelcarcinom der Haut.

Das Carcinomgewebe wurde zuerst mit Wasser abgespült, dann mit Alkohol und Äther extrahiert und im Thermostaten zur Konstanz getrocknet.

0,01 g wurden mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure, wie beschrieben, versetzt. Die Reaktion zeigte einen rötlichen Farbenton, so daß sie im Colorimeter mit der Tryptophanreaktion nicht gut verglichen werden konnte.

Im Apparat von Sörensen zeigte sich, daß die Tryptophanreaktion von 0,01 g Carcinompulver der Tryptophanreaktion von 1:6000 entspricht.

$$1:6000 = 0{,}00017$$
$$0{,}01:0{,}00017 = 100:x$$
$$x = 1{,}7.$$

Es beträgt also die Menge des im Plattenepithelialcarcinom enthaltenen Tryptophans 1,7%.

Tryptophangehalt der Leber und des Lebercarcinoms.

Im Anschluß an diese Untersuchungen bestimmten wir den Tryptophangehalt im normalen Lebergewebe und im Carcinom der Leber. Wir verwendeten nur frisches Material, das wir, wie unten beschrieben, präparierten. Wir erhielten aus Lebergewebe ein graubraunes Pulver, aus dem Carcinomgewebe ein etwas dunkleres graues Pulver.

Tryptophanbestimmung im normalen Lebergewebe und im Carcinom der Leber.

Das Gewebe wird mit Wasser gut ausgewaschen, im absoluten Alkohol gekocht, in der Reibschale verrieben (das normale Lebergewebe läßt sich viel leichter und regelmäßiger verreiben als das Carcinomgewebe) und im Thermostaten zur Konstanz getrocknet.

Lebergewebe.

0,01 g, mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure versetzt, entsprach im Apparat von P. Sörensen der Tryptophanreaktion 1:10000.

$$0{,}01:0{,}0001 = 100:x$$
$$x = 1.$$

Lebergewebe enthält daher ca. 1% Tryptophan.

Carcinom der Leber (nach Pankreascarcinom).

Das Gewebe wurde in derselbe Weise wie oben bearbeitet. 0,01 g des Carcinomgewebes wird mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure versetzt; zeigt ebenso wie normale Leber Tryptophanreaktion mit rötlichem Farbenton und wird daher im Apparat von Sörensen verglichen.

Die Reaktion des Lebercarcinoms ist schon mit freiem Auge als deutlich stärker erkennbar als die Reaktion des normalen Lebergewebes.

Im Apparat von Sörensen entspricht die Reaktion der Tryptophanreaktion von 1:6000.

$$0{,}01 : 0{,}0001666''' = 100 : x$$
$$x = 1{,}666'''.$$

Das Carcinomgewebe enthält daher ca. $1{,}666'''\,\%$ Tryptophan. Es erscheint also der Tryptophangehalt des Carcinomgewebes der Leber gegenüber dem normalen Lebergewebe deutlich vermehrt.

Wir setzten die quantitativen Tryptophanbestimmungen an Tumoren von Mäusen und Ratten fort und bestimmten die Tryptophanmenge beim

Carcinom der Maus (Bashford-Tumor).

Der Tumor wurde excidiert, in kleine Stückchen zerschnitten, mit Wasser abgespült, mit Alkohol und Äther im Soxhlet extrahiert, gepulvert, im Thermostaten bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,01 g wurden im Sörensenschen Apparat mit den Tryptophanlösungen verglichen und standen der Lösung 1:6000 am nächsten.

$$1 : 6000 = 0{,}00016$$
$$0{,}01 : 0{,}00016 = 100 : x$$
$$x = 1{,}6.$$

Das Carcinom der Maus enthält $1{,}6\,\%$ Tryptophan.

Sarkom der Ratte.

Der Tumor wurde wie oben behandelt.

0,01 g wurde mit Tryptophanlösung 1:7000 verglichen.

$$1 : 7000 = 0{,}00014$$
$$0{,}01 : 0{,}00014 = 100 : x$$
$$x = 1{,}4.$$

Das Sarkom der Ratte enthält $1{,}4\,\%$ Tryptophan.

Es zeigte sich also, daß der Tryptophangehalt des Mäusecarcinoms und des Rattensarkoms deutlich vermehrt ist. Das tryptophanreiche Casein enthielt ca. 0,65% Tryptophan.

Wir sehen aus diesen Untersuchungen eine deutliche Vermehrung des Tryptophangehaltes im Lebercarcinom im Vergleich zum Tryptophangehalt des normalen Lebergewebes, ebenso wie wir die Vermehrung des Tryptophans im Plattenepithelialcarcinom feststellen konnten.

Dagegen konnten wir bei einem Carcinom der Mamma keine Spur eines Tryptophangehaltes konstatieren, trotzdem wir das Gewebe, das wir, wie oben, mit Alkohol und Äther extrahiert und zur Konstanz getrocknet hatten, zuerst mit Glaspulver aufs feinste verrieben, bei einem anderen Versuch zuerst mit 50%iger Schwefelsäure versetzten. Niemals konnten wir nach Zusatz von Glyoxylsäure und konzentrierter Schwefelsäure eine Tryptophanreaktion erhalten.

Unsere Untersuchungen, die ja keineswegs abgeschlossen sind und an Tumoren in größerem Stil fortgesetzt werden, zeigen bisher die bemerkenswerte Tatsache, daß der Tryptophangehalt des Lebercarcinoms und des Plattenepithelcarcinoms nahezu gleich ist und daß im Vergleich zum normalen Gewebe, d. i. einerseits das normale Lebergewebe, andrerseits die normale Epidermis oder die verhornte Oberhaut, das Carcinomgewebe einen vermehrten Tryptophangehalt aufweist.

Ebenso auffallend ist das Fehlen des Tryptophans bei einem Mammacarcinom.

Unsere bisherigen Untersuchungen ergeben also:

1. Eine Anreicherung von Tryptophan in der Oberhaut im Vergleich zur Subcutis bei der Haut des Menschen, sowie eine annähernd gleiche Tryptophanmenge in Psoriasisschuppen.

2. Eine deutliche Vermehrung des Tryptophangehaltes im Plattenepithelialcarcinom.

3. Eine deutliche Vermehrung des Tryptophangehaltes des Carcinoms der Leber im Vergleich zum normalen Lebergewebe.

4. Der Tryptophangehalt des Carcinomgewebes beim Plattenepithelialcarcinom und beim Lebercarcinom ist annähernd gleich.

5. Im derben Mammacarcinom konnten wir auch nicht spurenweise Tryptophan nachweisen.

Wenn wir die wichtige Rolle, die Tryptophan im Eiweißstoffwechsel spielt, hervorheben und auf die Tatsache hinwiesen, daß ein im Stickstoffgleichgewicht befindliches Tier bei Entziehung des Tryptophans sofort eine negative Stickstoffbilanz ergab[1]), so müssen wir den Unterschied im Tryptophangehalt der malignen Tumoren, die wir deutlich konstatieren konnten, die gebührende Bedeutung zuerkennen.

Es wurde in unserem Institute gezeigt[2]), daß beim Melanosarkom, das mit Melanurie verbunden ist, der Organismus nicht in der Lage ist, das Tryptophan wie normal abzubauen, sondern daß der Organismus im Gegensatz zum Verhalten bei der Alkaptonurie den Benzolring des Indolringsystems zu oxydieren vermag, daß er aber nicht imstande ist, den Pyrrolring desselben Systems zu zerstören.

Es scheinen bei den malignen Neoplasmen zweierlei Vorgänge sich abzuspielen, bei denen das Tryptophan eine wichtige Rolle spielt.

Einerseits scheint das Neoplasma sich mit Tryptophan anzureichern, dasselbe dem Organismus zu entziehen, andererseits finden wir Tumoren, die gar kein Tryptophan enthalten, die zu ihrem Aufbau kein Tryptophan benutzen und daher aus physiologisch minderwertigen Eiweißkörpern bestehen.

---

[1]) Abderhalden und Rona, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 511, 1907.

[2]) Hans Eppinger, diese Zeitschr. 28, 183, 1910.

Über den Cholesterin- und Cholesterinestergehalt des Blutes verschiedener Tiere.

Von

Felix Kauders.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig-Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 27. Juli 1913.)

Der Cholesteringehalt der roten Blutkörperchen ist vielleicht zuerst Hoppe-Seyler aufgefallen, und seine Angaben wurden später von Abderhalden und Wooldrige bestätigt. Hoppe-Seyler behauptete, daß auch im Blutserum freies Cholesterin vorkomme, aber sein Befund wurde von Hürthle dahin gedeutet, daß das von ihm gefundene Cholesterin ein Kunstprodukt sei, entstanden bei der Verseifung der im Serum enthaltenen Ester. Denn im Blutserum hat schon 1833 Boudet Cholesterinester gefunden, und späterhin konnte Hürthle diese als Ölsäure-, Palmitinsäure- und Stearinsäure-Cholesterinester bestimmen. Die Frage aber, ob im Serum freies Cholesterin vorkomme, blieb offen, um so mehr, als Hepner die Behauptung aufstellte, daß das Cholesterin des Blutes den Blutkörperchen, die Ester aber dem Blutserum zukomme. Unter gewissen noch festzustellenden Bedingungen könne das Serum auch freies Cholesterin enthalten. Wir haben auf breiterer Basis versucht, die Beziehung des Cholesteringehaltes der Erythrocyten und des Estergehaltes des Serums, sowie seines Gehaltes an freiem Serum zur Resistenz der Erythrocyten und zum lytischen Vermögen der Seren zu studieren. Die Überlegung, von der wir ausgingen, beruht auf dem bekannten Versuche der Entgiftung der Saponine, die zugleich Hämolysine sind, durch Cholesterin. Wenn die Resistenz der roten Blutkörperchen verschiedener Tierarten gegenüber den Hämolysinen auf ihrem Cholesteringehalte beruht, so ist es sehr wahrscheinlich, daß man bedeutende Differenzen im Cholesteringehalt bei verschiedenen Erythrocytenarten finden muß. Ebenso kann das lytische Ver-

mögen des Serums abhängig sein einerseits von seinem Gehalte an hämolysierenden Ölsäurecholesterinester, andererseits behindert werden von seinem Gehalte an freiem Cholesterin. Wenn wir auch keine Methode haben, den Gehalt des Serums an Ölsäurecholesterinester zu bestimmen, so verfügen wir doch über Methoden, um den Gehalt von Cholesterin und Cholesterinester überhaupt zu bestimmen und uns so ein ungefähres Bild über die Verhältnisse zu verschaffen. Diese Frage nach dem Gehalte des Serums an freiem Cholesterin war für uns um so mehr von Interesse, als es in nicht veröffentlichten Versuchen Robert Dörr in unserem Institut gelungen ist, aus dem Serum Wassermann-positiver Soldaten freies Cholesterin in scheinbar reichlicher Menge darzustellen, was aber nicht bei Wassermann-negativem Serum aus gleicher Quelle gelungen ist. Dieser Befund hätte gewissermaßen eine Bestätigung gefunden in einer Untersuchung von J. H. Schulz[1]), welcher Forscher in aktivem Wassermann-positivem und inaktivem Wassermann-negativem, sowie in den inaktivierten beiden Serumarten Cholesterin, sowohl freies als auch als Ester gebundenes, bestimmte. Dieser Forscher hat zwar im Menschenblute und im Pferdeblutserum freies Cholesterin gefunden, aber schon in Wassermann-negativem. Im Wassermann-positiven zeigt seine Zahl eine Zunahme von freiem Cholesterin über das Doppelte. Beide inaktivierte Seren, sowohl positives als auch negatives, zeigen jedoch eine Abnahme an freiem Cholesterin, was doch sicherlich ein Versuchsfehler ist, um so mehr, als er auch das Gesamtcholesterin vermindert findet, da durch die Inaktivierung doch kein Cholesterinverlust entstehen kann. Die Methodik, die wir verwendeten, war folgende: In einigen Versuchen wurden Serum sowohl als auch rote Blutkörnchen nach der Methode von Sigmund Fränkel und Aladar Elfer[2]) getrocknet und mit Petroläther im Soxhletapparat erschöpfend extrahiert. In den anderen Versuchen wurden die gewaschenen und zentrifugierten Blutkörperchen oder das Serum in die vierfache Menge Alkohol eingegossen, nach einiger Zeit die koagulierte Masse von der Lösung abfiltriert und mit absolutem Alkohol nachgewaschen. Die alkoholische Lösung wurde stark eingeengt, mit Petroläther mehrfach aus-

[1]) Diese Zeitschr. 42, 255, 1912.

[2]) Diese Zeitschr. 28, 330, 1910 und 40, 138, 1912.

geschüttelt, der koagulierte Anteil in einem Soxhletapparat erschöpfend mit Petroläther extrahiert und die vereinigten petrolätherischen Auszüge für die Bestimmung des freien und gebundenen Cholesterins nach der Methode von A. Windaus benutzt[1]).

	Mengen	Ausgewog. Cholesterin-Digitonin	Ausgewog. Cholesterin-Digitonin aus der Esterport.	I. Freies Cholesterin	II. Gebundenes Cholesterin	Berechnet auf 1000 ccm freies Cholesterin	Cholesterin in Esterform
Hundeserum	70 g geben 0,28 Petrolätherrückstand	0,0003	0,0102	0,000075	0,0023	0,00107	0,03285
Pferdeserum	1215 ccm	0,1389	0,0969	0,0347	0,0242	0,0285	0,0199
Rinderserum	820 ccm	0,2374	0	0,05754	0	0,07017	0
Kaninchenserum	75 ccm	0,0222	0,0884	0,0055	0,0221	0,074	0,2946
Meerschweinchenserum	96 ccm	0,0295	0,0909	0,007375	0,0227	0,0768	0,2364
Hammelserum	23 g	0,0805	0,0035	0,0201	0,000875	0,8739	0,038
Hundeblutkörperchen	160 ccm Blutkörp.	0,0036	0	0,0009	0	0,00562	0
Meerschweinchenblutkörperchen	71 ccm = 75 g	0,056	0	0,014	0	0,1866	0
Kaninchenblutkörperchen	65 ccm = 70 g	0,1101	0	0,02752	0	1 kg feuchte Blutkörp. 0,3931	0
Rinderblutkörperchen	109 g	0,1938	0,0083	0,04845	0,00207	0,4444	0,019
Hammelblutkörperchen	29 g feuchte Blutkörp.	0,0685	0,0794	0,0171	0,02	0,589	0,689
Menschenserum — Wassermann	38,5 ccm	0,0464	0,1424	0,0116	0,0356	0,3012	0,9246
Menschenserum — Wassermann	34 ccm = 39 g	0,0913	0,2028	0,0228	0,0507	0,6705	1,4911
Menschenserum + Wassermann	94 ccm = 95 g	0,1236	0,1346	0,0309	0,03365	0,3207	0,3579
Menschenserum + Wassermann	51 ccm	0,1026	0,1842	0,02565	0,04605	0,5029	0,9029

[1]) Es ist notwendig, bei Verwendung der A. Windaus-Methode das käufliche Digitonin zu reinigen und mehrere Stunden zu warten, bis sich alles Cholesterin-Digitonin abgeschieden. Man arbeitet am besten, um quantitative Fehler zu vermeiden, im Doppelversuch. Man hüte sich, wie bei allen quantitativen Bestimmungen, vor großen Überschüssen des Fällungsmittels!

Die vorstehende tabellarische Aufstellung ergibt die Resultate sowohl für rote Blutkörperchen als für die Seren verschiedener Tiere.

Zum Vergleiche mögen die von Edmund Herrmann und Julius Neumann[1]) gefundenen Werte für das **Gesamtblut** dienen:

	Blutart	Freies Cholesterin	Esterförmig gebundenes Cholesterin
Mischproben	Hochgravide Frauen .	0,8346	0,9708
	Normale Frauen . .	0,8641	0,5755
	Neugeborene Kinder .	0,7811	0,1413
Einzelfälle	Hochgravide Frau . .	0,8523	1,1610
	do. . .	0,8685	1,2208

Wir machen nochmals darauf aufmerksam, daß es sich hier um Gesamtblutanalysen handelt, während wir Seren und Blutkörperchen getrennt haben.

Als Vergleich zu diesen Zahlen mögen noch die Zahlen dienen, die Schulz bei Untersuchung von Menschenserum gefunden hat. Die Umrechnung haben wir vorgenommen.

	Freies Cholesterin	Gebundenes Cholesterin
Aktives Wassermann-negatives Menschenserum enthält	0,2440	1,1280
Aktives Wassermann-positives Menschenserum enthält	0,5220	0,8670
Inaktives Wassermann-negatives Menschenserum enthält	0,1490	0,9709
Inaktives Wassermann-positives Menschenserum enthält	0,1380	0,6430

Wir glauben, daß diese Differenzen ebenso wie unsere Differenzen mehr auf der Verschiedenheit des Serumgemisches beruhen, da anscheinend schon in der Norm sehr bedeutende Schwankungen im Gehalte an freiem und gebundenem Cholesterin vorhanden sind. Um so erklärlicher sind diese Schwankungen, als es sich ja bei diesen Menschenseren nicht um durchaus normale handelt, sondern um Kranke, die syphilisverdächtig sind, deren Leiden sich aber durch den negativen Wassermann-Befund als andersartig darstellen.

[1]) Diese Zeitschr. **43**, Heft 1 und 2.

Was den Cholesteringehalt verschiedener Tiere anbelangt, hat A. Grigault den Cholesteringehalt im Blute verschiedener Tiere nach der colorimetrischen Methode bestimmt und gefunden, daß der Cholesteringehalt der verschiedenen Tiere in folgender Reihe ansteigt:

Nagetiere, Pferd, Schaf, Rind, Schwein, Mensch[1]).

Nach unseren Untersuchungen ordnen sich die Seren der verschiedenen Tiere ihrem Cholesteringehalt nach steigend an:

Hund, Pferd, Rind, Kaninchen, Meerschweinchen, Hammel.

Ihrem Cholesteringehalt nach verhalten sie sich folgendermaßen steigend:

Rind, Pferd, Hund, Hammel, Meerschweinchen, Kaninchen.

Die Blutkörperchen der verschiedenen Tiere ordnen sich nach ihrem Cholesteringehalte steigend folgendermaßen an:

Hund, Meerschweinchen, Kaninchen, Rind, Hammel.

Ihrem Cholesterinestergehalte nach in gleicher Weise. Auffallend ist der hohe Gehalt der Hammelblutkörperchen an Cholesterinestern.

Auf die biologischen Beziehungen werden wir in einer späteren Arbeit eingehen.

---

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. 71, 274. — Andre Mayer und Georges Schäffer, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 155, 728 bis 731.

Über den Einfluß der Lipoide auf die Gerinnung des Blutes.

Von

Friedrich Rumpf.

(Aus der Medizinischen Poliklinik zu Freiburg i. B.)

(Eingegangen am 28. Juli 1913.)

Viele bedeutungsvolle Tatsachen der Gerinnungslehre gehen auf die Untersuchungen von Al. Schmidt zurück. Die Ansicht über diesen Vorgang, die heute am meisten verbreitet ist, ist als eine Modifikation der ursprünglichen Theorie Schmidts anzusehen.

Schmidt[1]) lehrte, daß die Gerinnung zustande kommt durch ein Zusammenwirken zweier Körper, des schon seit längerer Zeit bekannten Fibrinogens und des Thrombins. Dieses hielt er für ein Ferment, eine Ansicht, die heute nicht mehr als absolut feststehend betrachtet werden kann.

Die Entstehung des Thrombins ist nach Schmidt ein recht komplizierter Vorgang: im Plasma findet sich, wie besonders die Untersuchungen verschiedener Schüler Schmidts gezeigt haben, kein Thrombin, wohl aber eine Vorstufe, ein Prothrombin. Die chemische Natur dieses Prothrombins ist unbekannt; wirksam wird das Prothrombin erst, wenn bestimmte Substanzen auf dasselbe eingewirkt haben: das sind die zymoplastischen Substanzen Al. Schmidts, die aus Leukocyten und anderen zerfallenden Zellen stammen sollen.

Schmidt hat Versuche gemacht, um die Natur dieser zymoplastischen Substanzen zu erforschen; er fand, daß sie alkohollöslich und hitzebeständig sind. Alkoholextrakte aus verschiedenen Geweben haben nach Schmidt die Eigentümlichkeit, in bestimmten Gerinnungsgemischen den Reaktionsablauf deutlich zu beschleunigen. Unter diesen gerinnungsbefördernden Stoffen scheint nach Untersuchungen der Schmidtschen

[1]) Schmidt, Die Blutlehre. 1892; Weitere Beiträge zur Blutlehre. 1895.

Schüler von Samson-Himmelstjerna[1]) und Nauk[2]) das Lecithin eine bedeutungsvolle Rolle zu spielen.

Die Schmidtsche Lehre von den zymoplastischen Substanzen fand lange Zeit nicht die ihr gebührende Würdigung. Vereinzelte Angaben darüber, daß Lipoide und besonders Lecithin gerinnungsbeschleunigend wirken können, fanden sich zwar auch in einigen späteren Arbeiten, aber meist ohne Zusammenhang mit den Forschungen Schmidts. So gibt z. B. Wooldridge[3]) an, daß Lecithin die Gerinnung von Peptonblut zu beschleunigen oder auszulösen vermag.

In den folgenden Jahren fanden die zymoplastischen Substanzen wenig Beachtung. Vielmehr wandte sich das Interesse vorwiegend der Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung zu. Arthus, Pekelharing[4]) und besonders Hammarsten[5]) bewiesen die Unentbehrlichkeit der Erdalkalien, speziell der Calcium- und Strontiumionen, für die Aktivierung des Thrombins. In ihrer Theorie war von den zymoplastischen Substanzen Schmidts nicht mehr die Rede. Die ablehnende Stellung, die Al. Schmidt selbst der Lehre von der Ca-Wirkung gegenüber einnahm, hat wohl dazu geführt, daß seine ganze Theorie etwas in Mißkredit kam.

Erst die Arbeiten von Fuld[6]) und Spiro[7]), sowie von Morawitz[8]) haben gezeigt, daß die Entstehung des Thrombins doch wohl ein komplizierterer Vorgang ist, als man nach Arthus und Pekelharing annehmen möchte. Neben Calciumsalzen und Prothrombin scheinen noch andere Substanzen für die Gerinnung des Blutes erforderlich zu sein oder diese doch wenigstens außerordentlich lebhaft zu beschleunigen. Man könnte wohl geneigt sein, diese Substanzen, die sich nach Nolf[9]) besonders in den Zellen des Blutes und der Gefäßwände finden, unbedenklich mit den zymoplastischen Substanzen Schmidts zu identifizieren. Aber es fanden sich doch gewisse Unterschiede. Die von Fuld und Spiro sowie von Morawitz gefundenen gerinnungsbeschleunigenden Stoffe zeigten große Labilität: durch Erwärmung auf ca. 70° gingen sie

---

[1]) von Samson-Himmelstjerna, Experim. Studien über das Blut. Inaug.-Diss. Dorpat 1882.

[2]) Nauk, Über eine neue Eigenschaft der Produkte der regressiven Metamorphose. Inaug.-Diss. Dorpat 1886.

[3]) Wooldridge, Chem. of the blood. 1893.

[4]) Pekelharing, Über die Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung. Beiträge f. R. Virchows Festschrift **1**, 1891.

[5]) Hammarsten, Über die Bedeutung der löslichen Kalksalze usw. Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**, 1896.

[6]) Fuld, Centralbl. f. Physiol. **1903**.

[7]) Fuld und Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **5**.

[8]) Morawitz, Die Chemie der Blutgerinnung. Ergebnisse der Physiol. **4**.

[9]) Nolf, Eine neue Theorie der Blutgerinnung. Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **10**, 1913.

zugrunde, sie waren nicht alkohollöslich und sehr schwer in trockenem Zustande zu gewinnen. Nur durch Eindampfen von Gewebssäften bei sehr niederer Temperatur gelang es Morawitz, Trockenpulver von Gewebsextrakten zu gewinnen, die lange Zeit hindurch ihre gerinnungserregende Wirkung beibehielten. Auch Conradi[1]) zeigte, daß die gerinnungsbeschleunigenden Stoffe der Gewebe schon nach kurzdauernder Autolyse zugrunde gehen. Morawitz führte auch eine Reihe von Versuchen mit Alkoholextrakten verschiedener Organe aus; ihre Wirkung stand aber so weit hinter der frischer Gewebssäfte zurück, daß wohl davon nicht die Rede sein kann, daß die Gesamtheit gerinnungsfördernder Stoffe in den Alkoholextrakten enthalten sein könne. Morawitz läßt es offen, wie sich diese Gegensätze zwischen den älteren Versuchen Schmidts und seinen eigenen aufklären lassen. Jedenfalls hielt er es nicht für richtig, die von ihm und Fuld und Spiro gefundenen thermolabilen Substanzen mit den zymoplastischen Stoffen Schmidts zu identifizieren. Er schlug für die ersteren den Ausdruck Thrombokinase vor, der sich scheinbar eingebürgert hat.

Eine weitere Förderung erfuhr die Frage durch die Untersuchungen von L. Loeb[2]) und Muraschew[3]). Diese Autoren zeigten, daß die gerinnungsbeschleunigenden Stoffe der Gewebe bis zu einem gewissen Grade artspezifische Eigenschaften haben. Das Thrombin selbst ist nur relativ wenig artspezifisch. Thrombine beliebiger Tiergattungen können das Fibrinogen anderer, oft sehr weit entfernter Wirbeltiergattungen zur Gerinnung bringen. Ein gutes Beispiel hierfür ist eine von Fuld hervorgehobene Tatsache: der gerinnungshemmende Stoff des Blutegels, das Hirudin, ist imstande, die Blutgerinnung bei den allerverschiedensten Tieren zu hemmen. Da das Hirudin ein Antithrombin ist, darf man wohl annehmen, daß auch die Thrombine verschiedener Tierarten einander ähnlich sind. Ganz anders steht es mit den gerinnungbeschleunigenden Stoffen der Gewebssäfte, was besonders Loeb zeigen konnte.

In neuester Zeit sind nun einige Arbeiten erschienen, die auf die alten Schmidtschen Untersuchungen zurückgehen. Es wird von Zak[4]) sowie von Bordet und Delange[5]) der Versuch gemacht, die alten Anschauungen Al. Schmidts zum Siege zu führen. Nicht fermentähnliche Stoffe, nicht Thrombokinasen sollen das wirksame Prinzip der Gewebssäfte dar-

[1]) Conradi, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1.

[2]) Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 176, 1904.

[3]) Muraschew, Über die Spezifität des Fibrinfermentes. Arch. f. klin. Med. 80.

[4]) Zak, Studien zur Blutgerinnung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 1912.

[5]) Bordet und Delange, Betrachtungen über die Rolle der Lipoide bei der Blutgerinnung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 1912.

stellen, sondern Lipoide. Da mir die Untersuchungen von Bordet und Delange nur in einem kurzen Auszuge zugänglich waren, möchte ich etwas ausführlicher auf die Versuche von Zak eingehen. Zak und ebenso Bordet und Delange sprechen auf Grund ihrer Befunde die Vermutung aus, daß alle Wirkungen, die man bisher der Thrombokinase zuzuschreiben pflegte, durch Lipoide der Gewebe zustande kommen.

Zak, der zu seinen Untersuchungen Pferdeoxalat- bzw. -citratplasma wählte, hat im wesentlichen zwei Versuchsreihen angestellt: einmal hat er den Lipoidgehalt des Plasmas durch Zusatz von Lipoidemulsion in Kochsalzlösung vermehrt, und zweitens gelang es ihm, die Lipoide im Plasma auf verschiedene Weise zu vermindern oder zu beeinflussen. Seine einfachste und überzeugendste Methode ist jedenfalls ihre Extraktion mit Petroläther. Diese Versuche wiederholte ich in der von Zak angegebenen Anordnung, während ich auf die Wiederholung der Versuchsgruppe, bei denen Zak die Plasmalipoide durch Fällung mittels einiger Alkaloide und Spaltung durch Fermente beeinflußte, verzichtet habe.

In Kürze will ich die Wege angeben, die Zak zur Darstellung des Versuchsmaterials eingeschlagen hat, und denen auch ich gefolgt bin. Zunächst die Gewinnung der Lipoide. Auch ich habe ausschließlich Phosphatide benutzt, die aus frischem Rinderhirn hergestellt wurden. Genaueres über ihre Gewinnung und Eigenschaften findet sich in einer Arbeit von Bang[1]). Die dort ausführlicher geschilderte Darstellungsmethode, die Erlandsen vorgeschlagen hat, wurde benutzt. Das zu einem Brei zerkleinerte Hirn wurde auf Petrischalen ausgestrichen, etwa 12 Stunden im Brutschrank bei 37° getrocknet, pulverisiert und mit Petroläther extrahiert. Es folgte eine mehrmalige Fällung mit Aceton, wonach die Niederschläge wieder in Petroläther gelöst wurden; die dritte derartige Lösung wurde getrocknet und im Vakuum und unter Lichtabschluß aufbewahrt. Ich habe wie Zak schließlich einen okerfarbenen Lack erhalten, der in Kochsalzlösung eine milchige Emulsion ergab, gleichfalls neutral reagierte und auf Kaninchenblutkörperchen nicht hämolytisch wirkte.

---

[1]) Bang, Biochemie der Zellipoide. Ergebn. d. Physiol. 6.

Zu allen Gerinnungsversuchen mit entkalktem Pferde- resp. Rinderplasma wurden immer die gleichen Mengen von 2 ccm Plasma und 2% Lipoidemulsion in physiologischer Kochsalzlösung gebraucht; ausgelöst wurde die Gerinnung jeweils durch 6 Tropfen einer 5%igen $CaCl_2$-Lösung, was der Versuchsanordnung von Zak entspricht. Diese wurde nun dahin erweitert, daß ich vergleichende Versuche mit Thrombokinasezusatz anstellte. Zur Herstellung der letzteren wurde frische Pferde- bzw. Rinderleber benutzt, die Stücke wurden nach Möglichkeit durch Auswaschen von Blut befreit, dann zerhackt und der Brei $^1/_2$ Stunde mit Kochsalzlösung kräftig geschüttelt. Schließlich wurde dieses Gemisch für einige Stunden in den Eisschrank gestellt, die Thrombokinaselösung dekantiert und sofort verwandt.

I. Versuche mit Zusatz von Lipoiden und Thrombokinase zum Pferde- bzw. Rinderplasma.

In 5 Reagensgläser gleichen Kalibers wurden je 2 ccm Oxalatplasma verteilt, Glas 1 bis 4 erhielten die steigenden Zusätze der Lipoidemulsion; Glas 5 diente als Kontrolle mit 0,20 ccm NaCl-Lösung. Hierauf kamen die Gläser immer für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank, dann wurde die Gerinnung mit je 6 Tropfen der $CaCl_2$-Lösung ausgelöst und mit der Stoppuhr verfolgt.

Im Anschluß an einen derartigen Versuch wurde immer ein zweiter in gleicher Anordnung ausgeführt, mit dem Unterschied, daß Thrombokinase in steigenden Mengen zugesetzt wurde. In den folgenden Tabellen benutze ich die gleichen Zeichen für den Grad der Gerinnung wie Zak[1]).

Ich gebe aus einer größeren Reihe gleichmäßig angestellter Versuchsserien ein Beispiel wieder; die Resultate waren überall die gleichen.

a) Lipoidzusatz, Pferdeplasma.

	Zeit nach dem $CaCl_2$-Zusatz					
	30′	35′	40′	45′	50′	60′
2 ccm Plasma + 0,05 Lipoid	○	○	⊕	+	+	++
2 „ „ + 0,10 „	⊕	+	+	+	++	++
2 „ „ + 0,15 „	+	+	+	+	++	++
2 „ „ + 0,20 „	+	++	++	++	++	++
2 „ „ + 0,20 NaCl	○	○	○	+	+	++

[1]) ○ bedeutet keine Gerinnung. ⊕ bedeutet Spuren von Gerinnseln. + bedeutet Gelatinöswerden und Klumpenbildung. ++ bedeutet totale Gerinnung, Umkehrbarkeit des Glases.

b) Thrombokinasezusatz, Pferdeplasma.
(Pferdeleber.)

	Zeit nach dem $CaCl_2$-Zusatz					
	11′	12′	13′	14′	15′	55′
2 ccm Plasma + 0,05 Tromb.	○	○	○	⊕	++	
2 „ „ + 0,10 „	⊕	+	+	++	++	
2 „ „ + 0,15 „	○	+	++	++	++	
2 „ „ + 0,20 „	⊕	+	++	++	++	
2 „ „ + 0,20 NaCl	○	○	○	○	○	++

Zur Kontrolle wurden ferner 2 ccm Plasma ohne jeden Zusatz in den Brutschrank gestellt, die Gerinnung erfolgte 45 Minuten nach dem Hinzufügen des $CaCl_2$.

Dieser Versuch lehrt, daß die Lipoide eine geringe Beschleunigung der Gerinnung herbeizuführen vermögen; vergleicht man diese jedoch mit der durch die Thrombokinase erzielten, so steht sie in ihrer Intensität weit hinter dieser zurück. Noch deutlicher tritt dies hervor, wenn man die beiden folgenden Tabellen betrachtet, deren Resultate unter den gleichen Versuchsbedingungen mit Rinderoxalatplasma erhalten wurden.

a) Lipoidzusatz, Rinderplasma.

	Zeit nach dem $CaCl_2$-Zusatz					
	15′	17′	18′	19′	22′	26′
2 ccm Plasma + 0,05 Lipoid	⊕	⊕	⊕	+	++	
2 „ „ + 0,10 „	⊕	+	+	++	++	
2 „ „ + 0,15 „	+	+	++	++	++	
2 „ „ + 0,20 „	+	++	++	++	++	
2 „ „ + 0,20 NaCl	⊕	⊕	+	++	+	++

b) Thrombokinasezusatz, Rinderplasma.
(Rinderleber.)

	Zeit nach dem $CaCl_2$-Zusatz					
	1′	1′ 30″	2′	3′	4′	28′
2 ccm Plasma + 0,05 Thromb.	○	○	⊕	⊕	++	
2 „ „ + 0,10 „	○	○	⊕	+	++	
2 „ „ + 0,15 „	○	⊕	+	++	++	
2 „ „ + 0,20 „	⊕	+	++	++	++	
2 „ „ + 0,20 NaCl	○	○	○	○	○	++

Rinderplasma ohne jeden Zusatz war in diesem Falle nach 20 Minuten geronnen.

Wir sehen also beim Rinderplasma in noch viel ausgesprochenerem Grade, als es schon beim Pferdeplasma der Fall war, daß die Wirkungen der Trombokinase (Gewebssäfte) und der Lipoide auch nicht im entferntesten miteinander verglichen werden können. Während bei Zusatz von Trombokinase die Gerinnung schon in 1 Min. 30 Sek. nach dem Ca-Zusatz erfolgt, bedarf sie bei Zusatz von Lipoiden 15 Minuten und verläuft nur unwesentlich rascher, als ohne jeden Lipoidzusatz.

Diese enormen quantitativen Differenzen müssen schon den Gedanken erwecken, daß der Schluß auf die Identität der Trombokinase mit den Lipoiden verfrüht erscheint, und das um so mehr, als in den Gewebssäften, trotz ihrer vielfach stärkeren Wirksamkeit, sicher viel weniger Lipoide enthalten sind als in der Lipoidemulsion.

Auch eine andere Tatsache ist in diesen Versuchen bemerkenswert. Wie Loeb[1]) gezeigt hat, sind die wirksamen Stoffe der Gewebssäfte in recht ausgesprochenem Maße artspezifisch. Nun hatten wir die Lipoide durchweg aus Rinderhirn, die Trombokinase aber aus Pferde- oder Rinderlebern dargestellt; diese Extrakte wurden mit Pferde- resp. Rinderplasma kombiniert. Man sollte nun denken, daß die aus Rinderhirn gewonnenen Lipoide gerade mit Rinderplasma besonders wirksam reagieren würden, da sie doch mit der Trombokinase identisch, also artspezifisch sein sollen. Aber das ist nicht der Fall, vielmehr treten die Differenzen der Wirksamkeit zwischen Lipoiden und Trombokinase in den Versuchen mit Rinderplasma noch viel deutlicher hervor, als in denen mit Pferdeplasma.

Auch das ist nicht geeignet, jene von Zak und Bordet und Delange verfochtene Identität zu stützen.

II. Versuche mit Plasma, das durch Extraktion mit Petroläther lipoidarm gemacht ist (Zak).

Ich folge in dieser Versuchsreihe der von Zak vorgeschlagenen Methodik. Unterwirft man Oxalatplasma vom Pferde einer 12 bis 20stündigen, vorsichtig vorgenommenen Extraktion mit Petroläther, so erhält man ein Plasma, das sich äußerlich von Normalem nur durch sein trübes Aussehen unter-

[1]) Loeb, Biochem. Centralbl. 1907.

scheidet. Eine Bildung von Gerinnseln läßt sich, wenn man vorsichtig zu Werke geht, vermeiden. Ein solches Plasma gerinnt selbst in 24 bis 48 Stunden nicht, und zwar weder im Eis- noch im Brutschrank, auch nicht auf Zusatz von Chlorcalcium. Fügt man jedoch zu einem derartig behandelten Plasma Lipoidemulsion hinzu, so tritt je nach den gewählten Mengenverhältnissen die Gerinnung nach 2 bis 6 Stunden ein.

Setzt man z. B. zu 2 ccm Plasma, das 20 Stunden extrahiert wurde, 0,20 ccm einer $2^0/_0$igen Lipoidaufschwemmung, so ist die Gerinnung nach 3 Stunden 30 Minuten vollständig eingetreten; auch hier nach dem Moment des $CaCl_2$-Zusatzes gerechnet.

In diesen vielfach variierten und häufig ausgeführten Versuchen sehe ich eine Bestätigung der tatsächlichen Befunde von Zak. Da nur Lipoidzusatz, nicht aber Thrombokinase und $CaCl_2$ das Plasma zur Gerinnung bringen können, so erscheint die Ansicht wohl begründet, daß die Lipoidarmut des Plasmas ungünstige Bedingungen für den Ablauf der Gerinnung abgibt. Aber daraus darf man noch nicht schließen, daß die Lipoide nun für die Entstehung des Thrombins maßgebende Bedeutung haben.

Es zeigt sich nämlich, daß das lipoidarme Plasma auch auf Zusatz von frischem Blutserum, in dem also fertiges Thrombin enthalten ist, nicht gerinnt. Jedenfalls konnte ich in 5 Versuchsreihen mit variierten Mengen Serum und lipoidarmen Plasma niemals Gerinnung erzielen, selbst nicht bei längerem Aufenthalt im Brutschrank.

Diese Versuche scheinen mir zu zeigen, daß die Bedingungen im lipoidarmen Plasma offenbar sehr komplizierter Natur sind, da auch das fertige Thrombin des Serums nicht imstande ist, Gerinnung auszulösen, obwohl das Serum natürlich eine gewisse Menge von Lipoiden enthält. Soviel aber scheint mir sicher: trotz voller Bestätigung der tatsächlichen Befunde von Zak bezüglich der Gerinnbarkeit des lipoidarmen Plasmas kann man aus diesen Tatsachen einstweilen noch nicht den Schluß ziehen, daß die Lipoide zur Entstehung des Thrombins erforderlich sind.

Gerade die von mir mit Thrombin und Plasma ausgeführten Versuche lassen noch an manche andere Erklärungsmöglichkeiten denken. Ich weise nur auf die Möglichkeit von Änderungen physikalischer Faktoren hin, an die bei einem so komplizierten Gemenge, wie es das Plasma ist, entschieden gedacht werden muß.

Es sei hier auch daran erinnert, daß man z. B. die sicher sehr lipoidarme, nach Hammarsten[1]) gewonnene Fibrinogenlösung mit Schmidtschem Thrombin, das nach seiner ganzen Herstellungsart als nahezu lipoidfrei anzusehen ist, in ausgezeichneter Weise zur Gerinnung bringen kann. Auch diese Tatsache muß uns bei allen Erklärungsversuchen des von Zak festgestellten Phänomens zur Vorsicht mahnen.

III. Versuche mit Kombinationen von Serum und Lipoiden (Bordet und Delange).

Wie schon angedeutet, stellen sich Bordet und Delange bezüglich der Wirkungsweise der Thrombokinase auf denselben Standpunkt wie Zak. Der Unterschied ihrer Versuche gegen die soeben besprochenen liegt darin, daß Bordet und Delange nicht vom Plasma ausgehen, sondern Serum und eine Fibrinogenlösung ihren Untersuchungen zugrunde legen. Dies Vorgehen ermöglichte den beiden Forschern eine speziellere theoretische Begründung ihrer Auffassung über die Thrombokinase.

Leider stand mir nur die kurze Mitteilung der Autoren im Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. zur Verfügung. Bordet und Delange meinen, daß wässerige Lipoidaufschwemmungen in sehr geringen Quantitäten imstande sind, große Mengen von Fibrinferment bei Anwesenheit von Serum zu erzeugen. Der folgende, der genannten Mitteilung entnommene Satz charakterisiert diese Auffassung noch deutlicher: „Unsere Untersuchungen beweisen also entschieden, daß eine der unumgänglich notwendigen Vorstufen des Fibrinfermentes, die in vielen Zellen entweder des Blutes (Plättchen) oder der Gewebe vorhandenen Thrombokinase, die mit dem Plasma- oder Serumthrombogen reagiert, eigentlich eine Substanz darstellt, die die Löslichkeitseigenschaften der Lipoide besitzt, deren chemische Zusammensetzung man aber erst genau erkennen kann, wenn man sie im reinen Zustande erhalten haben wird."

Begründet wird diese Anschauung durch die gleich zu besprechenden Versuche. Verfasser hofft der Versuchsanordnung der beiden Autoren gerecht geworden zu sein, wenn er folgendermaßen vorging:

[1]) Hammarsten, Über das Fibrinogen I/II. Arch. f. d. ges. Physiol. 19 und 22.

Aus frischem Pferdeoxalatplasma wurde nach der Methode von Hammarsten durch Aussalzen mit gesättigter Kochsalzlösung und mehrfaches Lösen und Fällen in destilliertem Wasser eine Fibrinogenlösung hergestellt; nach dreimaligem Umfällen stellte diese in frischem Zustande eine wasserklare Flüssigkeit dar. (Näheres über die Technik bei Morawitz[1]). Der Vorschrift Bordets und Delanges, daß man nur mit vollständig von geformten Bestandteilen befreiten Pferdeserum arbeiten dürfe, wurde durch sehr langes und scharfes Zentrifugieren nachgekommen.

Meine Versuchsanordnung war folgende: 6 Gläser erhielten je 1 ccm Serum, dann die aus den Tabellen ersichtlichen Zusätze einer 2 %igen Lipoidemulsion und ferner 6 Tropfen der $CaCl_2$-Lösung. Nun wurden je 2 ccm der Fibrinogenlösung hinzugefügt und von diesem Augenblick an der Verlauf der Gerinnung beobachtet. Nach Ablauf eines derartigen Versuches erfolgte immer sofort der Gegenversuch mit Thrombokinasezusatz. Auch bei diesen Versuchen wurde die Thrombokinase immer aus frischer Pferdeleber hergestellt.

Ich gebe ein Beispiel aus einer größeren Reihe:

a) Versuch mit Lipoidzusatz.

	Minuten nach 2 ccm Fibrinogenzusatz				
	23′	25′	37′	40′	47′
1 ccm Serum + 0,05 Lipoid	○	○	⊕	⊕	++
1 „ „ + 0,10 „	○	⊕	+	++	++
1 „ „ + 0,15 „	⊕	+	++	++	++
1 „ „ + 0,20 „	+	++	++	++	++
1 „ „ + 0,20 NaCl	○	○	⊕	+	++

b) Versuch mit Thrombokinasezusatz.

	Minuten nach 2 ccm Fibrinogenzusatz						
	5′	6′	7′	8′	9′	10′	46′
1 ccm Serum + 0,05 Thromb.	○	○	⊕	⊕	+	++	
1 „ „ + 0,10 „	○	⊕	⊕	+	++	++	
1 „ „ + 0,15 „	⊕	+	++	++	++	++	
1 „ „ + 0,20 „	+	++	++	++	++	++	
1 „ „ + 0,20 NaCl	○	○	○	○	○	○	++

[1]) Morawitz, Abderhaldens Lehrb. d. biochem. Arbeitsmeth. 5.

Auch bei diesen Versuchen wurde immer ein Gläschen, das nur mit $CaCl_2$ versetztes Serum enthielt, aufgestellt; in diesem Falle erfolgte seine Gerinnung 35 Minuten nach der Zugabe von 2 ccm Fibrinogen.

Auch hier erübrigt es sich, weitere derartige Versuchstabellen mitzuteilen; bei frisch bereiteten Lösungen erhielt ich immer ähnliche Werte, bei älterem Material entsprechende Verschiebungen derselben.

Diese Versuchsergebnisse stellen insofern eine Bestätigung der Untersuchungen von Bordet und Delange dar, als auch sie zeigen, daß die Lipoide einen beschleunigenden Einfluß auf die Gerinnung ausüben. Vergleicht man diesen jedoch mit dem intensiven Effekt der Thrombokinase, so stehen die Lipoide auch in diesem Falle weit in ihrer Wirkung hinter der ersteren zurück. Die Gerinnungsbeschleunigung der Serum-Fibrinogengemische beträgt bei Lipoidzusatz nur etwa 30%, bei Zusatz von Thrombokinase aber verläuft die Gerinnung beinahe 6mal rascher; die Beschleunigung beträgt mithin 600%, so daß quantitative Vergleiche sehr zuungunsten der Lipoide ausfallen. Man kann also auch nach dieser von Bordet und Delange eingeschlagenen Untersuchungsmethode ihre Anschauung nicht als genügend motiviert erachten. Worauf jener gerinnungsbeschleunigende Einfluß der Lipoide zurückzuführen ist, läßt sich noch nicht sagen; vielleicht ist er ähnlich zu deuten wie die von Nolf so hoch eingeschätzte Wirkung von feinverteilten Fremdkörpern auf den Ablauf der Gerinnung.

IV. Versuche mit genuinem Blut und Zusatz verschiedener gerinnungsfördernder Stoffe. (Eigene Versuche.)

Das Ziel dieser Experimente war einmal die Untersuchung des Einflusses von Thrombokinase, Lipoiden und Tierkohleaufschwemmung auf die Gerinnung des genuinen Kaninchenblutes, ferner wurde der Einfluß dieser Substanzen an Pepton- und Hirudinblut geprüft.

Die erste Gruppe wurde auf folgende Weise ausgeführt: Ich beschickte von 5 Reagensgläsern 4 mit den aus der untenstehenden Tabelle ersichtlichen Lösungen. Dann wurde an einem mit Urethan narkotisierten Kaninchen die Carotis frei

präpariert und in dieselbe eine paraffinierte Kanüle eingebunden; aus dieser läßt man nun möglichst rasch je 4 ccm Blut in die bereitgehaltenen Gläser einlaufen und kontrolliert die Gerinnung mit der Stoppuhr. Die folgende Übersicht gibt die Gerinnungszeiten des Blutes unter dem Einfluß der verschiedenen Substanzen an.

	Zeit nach der Blutentnahme									
	25″	3′	4′	5′	6′	7′	8′	9′	10′	11′
Normales Blut	○	○	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	+	++
+ 1 ccm Ringer-Lösg. .	○	○	⊙	⊕	⊕	⊕	+	+	++	++
+ 1 „ 2% Kohle . .	○	○	○	⊕	⊕	⊕	+	+	++	++
+ 1 „ 2% Lipoid .	○	○	○	⊕	⊕	+	++	++	++	++
+ 1 „ Thrombokin. .	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Die Wirkung der Thrombokinase ist eine enorme, denn unter ihrem Einfluß verläuft die Gerinnung in 25 Sekunden, während das mit Lipoidlösung versetzte Blut erst in 8 Minuten gerinnt, was eine Beschleunigung gegenüber dem normalen Blut von 3 Minuten bedeutet. Gegenüber der Kohleaufschwemmung und der Ringer-Lösung sind die Lipoide nur um 2 Minuten voraus. Dieser evidente Einfluß der Thrombokinase, die wie in den anderen Fällen auch aus arteigenem Gewebe (Kaninchenleber) bereitet wurde, kann nur durch eine besondere Wirkungsweise gedeutet werden. Den Lipoiden kommt hiernach kaum eine intensivere Wirkung zu als einer gleichprozentigen Kohleaufschwemmung oder einer gleich großen Menge Ringer-Lösung. Zwei weitere Versuche gaben dasselbe, absolut eindeutige Resultat.

Eine interessante Ergänzung zu diesen Beobachtungen stellen die Versuche mit Peptonblut dar. Das Peptonblut wurde in bekannter Weise von einem Hunde gewonnen.

In dem näher zu schildernden Versuch handelte es sich um einen ca. 9 kg schweren Hund, dem 100 g einer 3%igen Witte-Peptonlösung intravenös injiziert wurden. 5 Minuten später erfolgte die Blutentnahme in die vorher mit den verschiedenen Lösungen beschickten Gläser. Die Versuchsanordnung war also genau so wie bei dem Kaninchenversuch; es ergab sich folgendes Resultat:

	Zeit nach der Blutentnahme:				
	50″	60″	1′ 15″	10′	14h
4 ccm Peptonblut . . .	○	○	○	○	○
+ 1 ccm Ringer-Lösg. .	○	○	○	○	○
+ 1 „ Kohle	○	○	○	○	○
+ 1 „ Lipoid . . .	○	○	○	○	○
+ 1 „ Thrombokin. .	○	⊕	++	++	++

Dieses Ergebnis läßt wiederum die eigenartige Wirkung der Thrombokinase erkennen. Während sie das Blut in 1 Minute 15 Sekunden total gerinnen ließ, hatte weder die Lipoid- noch die Kohleaufschwemmung irgendeinen Einfluß auf das Peptonblut, das selbst nach 14 Stunden noch ungeronnen blieb. Aber damit noch nicht genug; setzt man nämlich zu diesen Gläsern, die Peptonblut resp. mit den Lösungen verdünntes Blut enthielten, nach 14 Stunden nur 0,5 ccm der Thrombokinaselösung zu, so gerinnt der Inhalt auch dann noch nach wenigen Minuten, was die folgende Tabelle beweist:

Fortsetzung des vorigen Versuchs nach 15 Stunden.

	Zeit nach dem Thrombokinasezusatz:				
	30″	1′	2′	2′ 30″	3′ 15″
4 ccm Peptonblut	○	⊕	+	++	++
+ 1 ccm Ringer-Lösg. .	○	⊕	+	+	++
+ 1 „ Kohle	○	○	+	++	++
+ 1 „ Lipoid . . .	○	○	+	+	++

Diese Versuche mit Peptonblut sind insofern bedeutsam, als hier nicht mehr allein quantitative Unterschiede in der Wirkung der Lipoide und der frischen Gewebssäfte hervortreten, sondern auch qualitative; die Thrombokinase wirkt fast augenblicklich, die Lipoide vermögen aber selbst nach 14 Stunden im Peptonblut keine Gerinnung zu bewirken.

Zum Schlusse sei nun noch auf die entsprechenden Versuche mit Hirudinblut eingegegangen. Auch sie wurden mit Hundeblut angestellt; ich verwandte Blut von einem 9 kg schweren Hunde, dem zu einem anderen Zweck 0,1 g Hirudin injiziert worden war; das Blut wurde in einem sorgfältig gereinigten Gefäß aufgefangen. Der einzige Unterschied gegenüber den vorigen Versuchen bestand also darin, daß das Blut

nicht direkt aus der Arterie in die Gerinnungsgläser verteilt wurde. Im übrigen ist aber die Versuchsanordnung, wie auch aus der folgenden Tabelle der Gerinnungszeiten ersichtlich ist, die gleiche.

Versuch mit Hirudinblut.

	Zeit nach der Blutzugabe:					
	1′	1′ 30″	2′ 10″	30′	2ʰ	15ʰ
2 ccm Hirudinblut	○	○	○	○	○	○
+ 1 ccm Ringer-Lösg.	○	○	○	○	○	○
+ 1 „ Kohle	○	○	○	○	○	○
+ 1 „ Lipoid	○	○	○	○	○	○
+ 1 „ Thrombokinase . .	○	+	++	++	++	++

Es ergeben sich hier also ähnliche Verhältnisse, wie sie für das Peptonblut konstatiert wurden. Die Gläser, die keine Thrombokinase enthielten, blieben 15 Stunden und länger flüssig; die Auslösung der Gerinnung gelang aber andererseits auch durch geringere Mengen von Thrombokinase, wie in dem als Beispiel dienenden Versuch. So brachten 0,5 ccm der gleichen Thrombokinaselösung 2 ccm Hirudinblut in 2 Minuten 50 Sekunden zur vollkommenen Gerinnung, während wieder der Inhalt der anderen Gläser unverändert blieb. Jedoch war es nicht möglich, wie bei den Peptonversuchen, das durch die verschiedenen Substanzen unbeeinflußt gebliebene Blut nachträglich durch Thrombokinase zur Gerinnung zu bringen. Es ist ja schon vielfach darauf hingewiesen worden, daß die Thrombokinase Hirudinblut oder Hirudinplasma nicht immer zur Gerinnung bringen kann. Es kommt da sehr wesentlich auf die Menge des Hirudins an. Ist sehr viel Hirudin da, so ist auch der Zusatz von Thrombokinase wirkungslos. In unserem Falle war die Hirudinmenge so gewählt, daß die Gewebssäfte prompte Gerinnung verursachten, während sowohl Lipoide als auch die anderen gerinnungsfördernden Stoffe wirkungslos blieben.

Zum Schlusse sei noch der Beeinflussung der Gerinnung durch die Tierkohleaufschwemmung gedacht: während sie das Kaninchenblut um ein Geringes früher gerinnen ließ als das normale Kontrollblut, hatte die Kohle auf Pepton- und Hirudinblut gar keinen Einfluß.

V. Zusammenfassung.

Die von verschiedenen Autoren, besonders von Zak und Bordet und Delange geäußerte Hypothese, die Wirkung der Gewebssäfte beruhe ausschließlich oder auch nur vornehmlich auf den in ihnen enthaltenen Lipoiden, kann in diesem Umfange sicher zurückgewiesen werden, da sich die weitgehendsten qualitativen und quantitativen Unterschiede in der Wirkungsweise beider Stoffe zeigen.

1. Lipoidemulsionen begünstigen die Gerinnung von Oxalatplasma, aber quantitativ nur sehr unbedeutend und nicht in artspezifischer Weise; Gewebssäfte wirken viel stärker.

2. Lipoidarmes Plasma gerinnt nur nach Zusatz von Lipoiden. Diese Beobachtung von Zak konnte bestätigt werden, sie läßt aber keinen Schluß anf die Identität der Thrombokinase und der Lipoide zu, wie eingehend gezeigt wurde.

3. Die Angabe von Bordet und Delange, daß Lipoide ähnlich wie Gewebssäfte im Serum große Thrombinmengen entwickeln, besteht insofern nicht zu Recht, als die Beschleunigung der Gerinnung durch Lipoide bei dieser Versuchsanordnung verschwindend gering ist gegenüber der durch Gewebssäfte (Lipoide 30%, Gewebssäfte 600% Beschleunigung).

4. Die Gerinnungszeit genuinen Kaninchenblutes wird durch Gewebssäfte enorm, durch Lipoidemulsion unwesentlich beschleunigt.

5. Pepton- und Hirudinblut können durch Gewebssäfte sehr rasch zur Gerinnung gebracht werden, während Lipoide hier ganz unwirksam sind.

Hieraus ziehe ich den Schluß, daß die Lipoide mit den wirksamen Substanzen nicht identisch sind. Ihre Rolle bei der Gerinnung, die ich nicht leugnen will, bedarf noch weiterer Aufklärung. Jedenfalls empfiehlt es sich, für die wirksamen Stoffe der Gewebssäfte den Ausdruck Thrombokinase beizubehalten.

Zur Methode der Verbrennungscalorimetrie und der Elementaranalyse mit Hilfe der calorimetrischen Bombe.

Von

M. Diakow, St. Petersburg.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 29. Juli 1913.)

Die Wärmebestimmung im Berthelotschen Verbrennungscalorimeter gehört mit zu den feinsten quantitativen Methoden. Es ist bei sorgfältiger Ausführung der Bestimmung nicht allzu schwierig, eine Genauigkeit bis zu $^1/_{10}\,^0/_0$ des ganzen Wertes zu erreichen. Angesichts dieser Feinheit der Methode an sich ist speziell für die Verwendung der Calorimetrie beim Studium des tierischen Stoffwechsels ein Fehler erheblich, der bei der Bestimmung des zu Salpetersäure, resp. salpetriger Säure verbrennenden Stickstoffs gemacht wird. Diesen Fehler korrigiert man allgemein durch Ermittlung der Acidität des Spülwassers der Bombe, indem man annimmt, daß die so nachgewiesene Säure ausschließlich Salpetersäure sei. Diese Annahme ist richtig, solange man aschefreie organische Körper verbrennt. Soweit es sich aber um Nahrungsmittel, Harne oder Kote von Tieren handelt, entsteht durch die Mineralstoffe, die in diesen Substanzen enthalten sind, ein mehr oder weniger großer, nicht genau abzuschätzender Fehler. Auf diesen Fehler haben schon Zuntz, Loewy und Mitarbeiter in „Höhenklima und Bergwanderungen" hingewiesen und haben bei ihren damaligen Bestimmungen der Wärmebilanz des menschlichen Körpers eine direkte Methode der Bestimmung der Salpetersäure angewendet. Sie bestimmten dieselbe nach dem Verfahren von Jodlbauer und fanden dabei, daß nach Verbrennung von menschlichem Harn die Acidität meist erheblich größer ist, als der gebildeten Salpetersäure entspricht. Hier ist es hauptsächlich die Schwefelsäure, die zum größeren Teil präformiert im Harn vorkommt,

zum kleineren Teil aus dem sog. neutralen Schwefel entsteht, welche die Fehler bedingt. In anderen Fällen, namentlich in an Carbonaten reichen Harnen kann die Menge dieser letzteren so groß sein, daß sie die ganze Salpetersäure neutralisieren, daß also scheinbar überhaupt keine Salpetersäurebildung stattgefunden hat. Bei den ungemein mineralstoffreichen Exkrementen der großen Pflanzenfresser spielt dieser Fehler, der anscheinend bisher in der Literatur kaum Beachtung gefunden hat, eine besonders wichtige Rolle. Als Beleg gebe ich einige Zahlen über die im Verbrennungscalorimeter gefundene Acidität im Vergleich zu der von mir nach Jodlbauer bestimmten Salpetersäure.

Tabelle I.

HNO_3-Bestimmungen.

Harn	Gewicht des verbrannten Harns	Durch Titration gefundene Acidität	Nach Jodlbauer
I. Periode . . .	7,6765 g	0,278 g HNO_3	0,070 g HNO_3
I. „ . . .	6,8762 g	0,244 g „	0,073 g „
II. „ . . .	7,2846 g	0,263 g „	0,081 g „
II. „ . . .	6,9136 g	0,259 g „	0,077 g „
III. „ . . .	7,1831 g	0,206 g „	0,082 g „

Zur Kontrolle der Genauigkeit der Salpetersäurebestimmungen nach Jodlbauer gebe ich folgende Bestimmungen des N in KNO_3 nach Jodlbauer.

Nr. 1. KNO_3 — 0,2229 g = 0,0305 g N.
Auf 100 g . . . . . 13,68% N
Theoretisch . . . . 13,80% „
Differenz 0,12% N

Nr. 2. KNO_3 — 0,1831 g = 0,02475 g N.
Auf 100 g . . . . . 13,52% N
Theoretisch . . . . 13,80% „
Differenz 0,28% N

Nr. 3. KNO_3 — 0,2742 g = 0,0363 g N.
Auf 100 g . . . . . 13,24% N
Theoretisch . . . . 13,80% „
Differenz 0,56% N

Man sieht, daß die übliche Titrierung hier die Salpetersäure um das 3 bis 4 fache zu hoch erscheinen läßt. Die hier benutzten Harne waren vor dem Eintrocknen möglichst genau mit Salzsäure neutralisiert worden. Lackmuspapier diente dabei als Indicator.

Die richtige Bestimmung der Salpetersäure hat aber, abgesehen von den zuweilen recht erheblichen Fehlern in der Bestimmung des Wärmewertes der aschereichen Substanzen, auch noch eine weitere Bedeutung für die nachher von mir zu besprechende Elementaranalyse in der Bombe. Bei dieser Analyse handelt es sich allerdings nur um den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäurebildung. Es ist aber die Untersuchung des Stickstoffs im Anfangs- und Endgase eine sehr wertvolle Kontrolle der ganzen Methode. Es wird nie möglich sein, bei der Elementaranalyse in der Bombe den Stickstoff so genau zu bestimmen, wie dies nach der Kjeldahlschen Methode geschieht. Aber die annähernde Übereinstimmung des nach der Verbrennung in der Bombe gefundenen Stickstoffgehalts der Substanzen mit dem nach Kjeldahl direkt ermittelten ist eine sehr zuverlässige Kontrolle der Genauigkeit der Elementaranalyse. Diese Kontrolle wird natürlich ganz illusorisch, wenn grobe Fehler in der Bestimmung der Salpetersäure gemacht werden. Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs der Substanz wird natürlich auch in dem Maße falsch, wie man die gebildete Salpetersäure unrichtig bestimmt. Der Fehler in der Sauerstoffbestimmung ist sogar 3 mal größer als der beim Stickstoff gemachte. Auch aus diesem Grunde scheint es notwendig, möglichst genau und zugleich bequem die Salpetersäure nach der Verbrennung zu bestimmen. Die jedesmalige Ausführung einer Analyse nach Jodlbauer bedeutet eine erhebliche Arbeit. Ich habe deshalb auf Vorschlag und unter Mitwirkung von Professor Zuntz versucht, eine bequeme colorimetrische Methode hierfür auszuarbeiten. Diese Methode beruht auf der bekannten Farbenreaktion der Salpetersäure mit Diphenylamin. Die saure Flüssigkeit wird mit destilliertem Wasser aus der Bombe ausgespült und auf ein rundes Volumen von 50 oder 100 ccm aufgefüllt. Es wird nun für die Salpetersäurebestimmung eine Lösung von etwa 5 g Diphenylamin in 1 l reiner Schwefelsäure bereitgehalten, und ferner eine titrierte 0,001 n-Salpetersäure. Man füllt in zwei kleine in $^1/_{100}$ ccm geteilte Büretten die Normallösung und die zu untersuchende Lösung aus der Bombe. Mit der Normallösung wird eine bestimmte Blaufärbung in einem Reagensglas, das eine abgemessene Menge der Diphenylamin-Schwefelsäure enthält, erzielt und dann in einem zweiten

entsprechenden Reagensglas die gleiche Färbung mit Hilfe der zu untersuchenden Lösung hergestellt. Aus dem Verhältnis der verbrauchten Lösung zur verbrauchten normalen Salpetersäure ergibt sich ohne weiteres die Salpetersäuremenge in der aus der Bombe gewonnenen Lösung. Da die Blaufärbung der Lösung durch geringe Wassermengen erheblich modifiziert wird, ist es wichtig, die Verdünnung der Bombenlösung so einzurichten, daß der Salpetersäuregehalt annähernd mit der Normallösung übereinstimmt. Kleine Differenzen habe ich durch Zutropfen von etwas Wasser zu der weniger verdünnten Mischung ausgeglichen. In einer Anzahl Bestimmungen harmonierte der Salpetersäuregehalt, wie er sich aus einer Bestimmung nach Jodlbauer ergibt, befriedigend mit dem Ergebnis der colorimetrischen Methode. Dennoch kann ich die colorimetrische Methode noch nicht empfehlen, weil sich in Kontrollversuchen mit verschieden verdünnten Nitratlösungen gröbere Abweichungen ergaben, deren Ursache bis jetzt nicht festzustellen war.

II.

Die Elementaranalyse in der Bombe ist, soweit es sich nur um die Bestimmung des Kohlenstoffs handelt, vielfach im Gebrauch. Für Stoffwechselversuche ist es aber, wie schon Frentzel und Zuntz hervorgehoben haben, von besonderer Bedeutung, bei dieser Analyse auch den Sauerstoffverbrauch der Substanzen direkt zu bestimmen, weil diese Bestimmung einen unmittelbaren Vergleich mit dem im Respirationsversuch bestimmten Sauerstoffverbrauch des Tieres ermöglicht. Eine kurze Beschreibung der Methode, so wie sie in den letzten Jahren im tierphysiologischen Institut Anwendung gefunden hat, findet sich in der Arbeit von v. d. Heide, Klein und Zuntz[1]). Die Resultate waren im allgemeinen recht befriedigend, aber die Methode erfordert doch ganz besondere Sorgfalt, hauptsächlich deshalb, weil die Ermittlung der Gasmenge, die nach der Verbrennung in der Bombe vorhanden war, auf zwei Wägungen derselben vor und nach der Entleerung der Gase beruht. Für die Genauigkeit dieser Wägungen ist es von entscheidender Bedeutung, daß die aus dem Wasser des Calorimeters herausgenommene Bombe absolut trocken und in

[1]) Landw. Jahrb. 44, 806.

ihrer Temperatur gut mit der Umgebung ausgeglichen ist. Es liegt ferner eine gewisse Gefahr darin, daß mit den Gasen Wasserdampf aus der Bombe ausströmt, dessen Menge nicht genau zu berechnen ist, weil das Gas sich während des Ausströmens allmählich expandiert und man daher aus Volumen und Temperatur die Wasserdampfmenge nicht genau berechnen kann. Außerdem besteht die Möglichkeit, daß kleinste Wasserbläschen sich in dem Ableitungsrohr befinden, und indem sie durch den Gasstrom herausgeführt werden, die Gewichtsbestimmung des Gases fehlerhaft machen. Alle diese Fehler werden ausgeschaltet durch eine Modifikation des Verfahrens, mit deren Prüfung mich Professor Zuntz betraut hat. Die Bombe wird nach der Verbrennung mit einem System zur Absorption und Wägung der Kohlensäure des ausströmenden Gases verbunden. Dieses System besteht ganz in der üblichen Weise aus einem nicht zu wägenden kleinen Trockenrohr und einem Natronkalkrohr, dessen einer Schenkel zum Teil mit Chlorcalcium gefüllt ist zur quantitativen Bestimmung der Kohlensäure. Ein drittes, jenseits angebrachtes Chlorcalciumrohr sichert vor Zutritt von Wasserdampf aus der Atmosphäre. Zwischen das Auslaßrohr der Bombe und das erste Trockenrohr wird noch ein enges *T*-Rohr eingeschaltet, das zu einer Quecksilberkugel führt, in der man einen gemessenen Teil des gesamten Bombengases während des Ausströmens aufsammelt. Diese Probe dient zur gasometrischen Analyse. In ihr wird mit Hilfe des (Landw. Jahrb. 44, 807) beschriebenen Apparates CO_2, O_2 und N bestimmt. Aus dem CO_2-Gehalt dieser Gasprobe und der gesamten CO_2-Menge, die im Natronkalkrohr gewogen ist, ergibt sich einerseits die gesamte Menge der in der Bombe befindlichen CO_2 und andererseits die Menge des in ihr befindlichen Gases. Letztere ist offenbar gleich der gesamten Kohlensäure, multipliziert mit 100 und dividiert durch den bei der Gasanalyse gefundenen Prozentgehalt des Bombengases an Kohlensäure. In gleicher Weise gibt der gasanalytisch gefundene Prozentgehalt an Sauerstoff und Stickstoff die Gesamtmenge dieser beiden Gase im Bombeninhalt. Selbstverständlich wird die Bombe, nachdem der Druck in ihr bis zu dem der Atmosphäre gesunken ist, durch einen Strom CO_2-freier Luft ausgespült, damit alle CO_2 im Natronkalk zur Wägung kommt.

Entsprechend dem (Landw. Jahrb. l. c., S. 809) angegebenen Gesichtspunkte der Vermeidung von CO_2-Absorption im Wasser wurde die Bombe nur mit 0,5 g Wasser befeuchtet. Das Anfangsgas in der Bombe wird nach wie vor auf der Wage bestimmt, indem man die Bombe vor und nach dem Einlassen des komprimierten Sauerstoffs mit einer Genauigkeit von etwa 5 mg wiegt. Vor dem Zuschrauben der Bombe und dem Einlassen des zu wiegenden Sauerstoffs hat man Temperatur und Barometerstand abgelesen, aus denen sich zusammen mit dem bekannten Volumeninhalt der Bombe die Menge atmosphärischer Luft ergibt, die sich anfangs in ihr befand. Die Differenz zwischen Anfangsgas und Endgas ergibt die Menge verbrauchten Sauerstoffs, gebildeter Kohlensäure und aus dem Stickstoff der verbrannten Substanz frei gewordenen Stickstoffs. Letzterem ist dann die Stickstoffmenge, die als Salpetersäure gebunden worden ist, hinzuzurechnen. Die in der Salpetersäure enthaltene Sauerstoffmenge ist von dem gefundenen Sauerstoffverbrauch zu subtrahieren, ebenso wie die kleine O_2-Menge, die durch den verbrennenden Eisendraht verbraucht worden ist. Bei den hier vorliegenden Versuchen wurde an Stelle des Eisendrahts Nickelindraht verwendet, an dem die perforierte Pastille aufgehängt war. Der Draht schmolz im Innern der Pastille ohne meßbare Erhöhung der Temperatur des Calorimeters. Die Berechnung wird wohl am besten durch ein Versuchsprotokoll illustriert.

Tabelle II.

Roggenschrot. Substanz 1,2216 g. Barometer 763,5 mm. Temperatur 19°.

	CO_2	O_2	N
Luft in der Bombe . .	0,16 mg	75,49 mg	250,50 mg
Eingef. Sauerstoff	8,48 g 3,39 „	8268,85 „	207,76 „
Anfangsgas	3,55 mg	8344,34 mg	458,26 mg
Endgas	1748,71 „	7071,07 „	476,92 „
Differenz . .	+ 1745,16 mg	− 1273,27 mg	+ 18,66 mg
Pro 1 g . .	+ 1428,60 „	− 1042,30 „	+ 15,30 „
Korrektur für HNO_3-Bildung . . .		− 13,33 „ in HNO_3	+ 3,88 „
		− 1028,97 mg	+ 19,18 mg

CO_2-Menge im Natronkalkrohr 1664,40 mg
„ „ in 300 ccm Gas . 84,31 „
1748,71 mg.

Auf 100 mg Endgas 18,81 mg CO_2
„ x „ „ 1748,71 „

$x = 9296{,}70$ mg Endgas.

Endgasanalyse:

		Mittelwert					
CO_2 . . .	14,31—14,31	14,31 %	vom	Volumen	= 18,81 %	vom	Gewicht
N . . .	6,10— 6,11	6,11 %	„	„	= 5,13 %	„	„
O_2		79,58 %	„	„	= 76,06 %	„	„

Zur Erläuterung der etwaigen Fehlergröße gebe ich noch in Tab. III eine Anzahl Doppelbestimmungen, aus denen für die Stoffwechselbilanz das Mittel genommen wurde. Weitere Kontrollen, die sich allerdings auf die ältere Methode der direkten Wägung der Endgase beziehen, haben die Herrn Dr. von der Heide und Tierarzt Klein in großer Zahl durch Verbrennen reiner Substanzen von bekannter Zusammensetzung ausgeführt. Auch diese Versuche ergaben befriedigende Resultate[1]).

Zu Tabelle III ist noch zu bemerken, daß der in der letzten Kolumne angegebene Fehler der Stickstoffbestimmung beim Harn um den beim Eintrocknen als NH_3 entwichenen Stickstoff zu verkleinern ist. Der Verlust war durchschnittlich 1 mg N pro 1 g Harn.

---

[1]) Erst nach der Abreise von Dr. Diakow wurde meine Aufmerksamkeit durch Dr. Higgins darauf gelenkt, daß der „Stickstoff" in dem von uns benutzten, aus flüssiger Luft hergestellten Sauerstoff zu einem großen Teile Argon ist, weil dessen Siedepunkt nur um etwa 3° niedriger liegt als der des Sauerstoffs, während Stickstoff 12,5° niedriger siedet. Infolgedessen verschieben sich die Gewichtsprozente der Bestandteile des Bombensauerstoffs, wie auch die des Anfangs- und Endgases. Ich habe zur Kontrolle die in Tabelle II als Muster gegebene Analyse von Roggenschrot umgerechnet unter der Annahme, daß der „Stickstoff" in dem benutzten verdichteten Sauerstoff zu 76 % Argon (1 l = 1,781 g) und nur zu 24 % wirklicher Stickstoff (1 l = 1,251 g) gewesen sei.

Das aus Luft- und Sauerstoff gemischte Anfangsgas hätte dann enthalten:

	statt	458,26 mg N	. .	226 mg	Argon	und 300 mg	N
das Endgas	„	476,92 „	„ . .	226 „	„	„ 316 „	„
Zunahme	statt	18,66 mg N				16 mg	N

Der in Tabelle III nachgewiesene Fehler wäre also in diesem Falle etwas kleiner geworden. Die Korrektur ist aber ganz unbedeutend. Die wesentlichen Daten CO_2 und O_2 ändern sich bei der modifizierten Berechnung fast gar nicht. Der Argongehalt kann also bei diesen Bestimmungen außer acht gelassen werden. Eine größere Bedeutung hat er bei der Verwendung des verdichteten Sauerstoffs im Respirationsversuch, wo äußersten Falles, wenn 2 Vol.-% Argon an Stelle von ebensoviel Stickstoff vorhanden wären, auf 1000 l ein Fehler von 10,6 g = 7,4 l Sauerstoff begangen würde. Zuntz.

Tabelle III.

Zusammensetzung des Futters, Kot und Harn pro 1 g.

	Calorien			CO_2-Bildung in Milligramm			O_2-Verbrauch in Milligramm			N laut Gasanalyse + gebundener N (für Harn nach Jodlbauer, für Kot und Futter durch Titration) in Milligramm			N n. Kjeldahl mg	Fehler der N-Bestimmung			
	Nr. 1	Nr. 2	Mittel	Nr. 1	Nr. 2	Mittel	Nr. 1	Nr. 2	Mittel	Nr. 1	Nr. 2	Mittel		Nr. 1	Nr. 2	Mittel	
Heu . . .	—	—	**4142,0**	—	—	**1552,8**	—	—	**1202,1**	—	—	—	—	—	—	—	Nach Analyse d. Herren Dr. von der Heide und Klein, s. Landw. Jahrb. **44**, 811.
Kartoffel-Stärke .	—	—	**3219,0**	—	—	**1291,1**	—	—	**886,6**	—	—	—	—	—	—	—	
Alkohol .	—	—	**7068,0**	—	—	**1910,9**	—	—	**2084,7**	—	—	—	—	—	—	—	Theoretisch.
Roggenschrot .	3782,6	3784,1	**3783,3**	1428,6	1422,7	**1425,6**	1029,0	1026,2	**1027,6**	+ 19,8	— 2,4	+ **8,7**	15,4	+ 4,4	— 17,8	— **6,6**	
Leinkuchen	4815,3	4820,8	**4818,0**	1679,3	1670,0	**1674,4**	1435,5	1441,1	**1438,4**	+ 57,9	+ 39,8	+ **48,8**	55,6	+ 2,3	— 15,8	— **6,7**	
Kot:																	
I. Periode	4355,9	4357,7	**4356,8**	1573,7	1566,6	**1570,1**	1132,0	1141,0	**1136,5**	+ 16,9	+ 15,3	+ **16,1**	19,9	— 3,0	— 4,6	— **3,8**	
II. „	4348,7	4326,8	**4337,8**	1554,0	1563,4	**1558,7**	1128,3	1135,7	**1132,0**	+ 13,4	+ 8,4	+ **10,9**	22,0	— 8,6	— 13,6	— **11,1**	
III. „	4334,7	4340,0	**4337,3**	1570,9	1564,1	**1567,5**	1136,8	1130,2	**1133,5**	+ 14,3	+ 15,5	+ **14,9**	21,4	— 7,1	— 5,9	— **6,5**	
Harn:																	
I. Periode	240,1	239,9	**240,0**	63,4	64,7	**64,0**	42,2	46,0	**44,1**	+ 9,9	+ 10,2	+ **10,0**	19,6	— 9,7	— 9,4	— **9,5**	
II. „	266,5	269,6	**268,0**	66,1	64,9	**65,5**	53,3	49,6	**51,5**	+ 18,2	+ 12,7	+ **15,4**	17,7	+ 0,5	— 5,0	— **2,2**	
III. „	256,7	254,7	**255,7**	58,5	59,7	**59,1**	42,7	42,9	**42,8**	+ 10,0	+ 12,3	+ **11,1**	18,0	— 8,0	— 5,7	— **6,8**	

Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels in der Schwangerschaft und der Lactation.

von

Ludwig Dienes (Budapest).

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 29. Juli 1913.)

Trotz mancher seit einer Reihe von Jahren ausgeführten Untersuchungen ist der Stoff- und Energieumsatz während der Schwangerschaft und mehr noch in der Lactationsperiode noch sehr unvollkommen bekannt. Was bis jetzt von Tatsachen vorliegt, wurde von Dr. L. Zuntz im Ergänzungsband von Oppenheimers Handbuch der Biochemie 1913 zusammengefaßt, und möchte ich, um unnütze Wiederholungen zu vermeiden, hier auf diese Zusammenstellung verweisen.

Meine eigenen Versuche sind an einer Hündin ausgeführt und umfassen die Zeit vom 23. Schwangerschaftstage bis zur Geburt und weiterhin die Lactationsperiode und den nach Beendigung der Lactation sich entwickelnden Zustand geschlechtlicher Indifferenz. Die Versuche wurden teils am tracheotomierten Tiere in Form kurz dauernder Atmungsversuche im nüchternen Zustande angestellt, teils wurde der 24stündige Stoffumsatz in dem kleineren, im hiesigen Institut befindlichen Respirationsapparat nach dem Prinzip von Regnault und Reiset studiert. Die Untersuchungen der letzteren Art wurden zum Teil an der säugenden Mutter, die sich mit ihren Jungen zusammen im Respirationskasten befand, ausgeführt, zum anderen Teil in kürzeren Zeitperioden von etwas über 4 Stunden an der Mutter für sich und an den Jungen allein. Nachdem die Lactation nach Entfernung der Jungen unterbrochen war, folgten dann noch zwei annähernd 24stündige Respirationsversuche an der Mutter und eine Anzahl Versuche an der letzteren bei direkter Trachealatmung in nüchternem Zustande.

Da die Versuche im Regnault-Reiset-Apparat in etwas anderer Weise ausgeführt wurden als die bisher in dem gleichen Apparat angestellten Untersuchungen von Oppenheimer, Mohr u. a., erlaube ich mir, die Art der Ausführung des Versuchs durch genauere Beschreibung eines derselben zu schildern. Die neuere Anordnung des Apparates gewährt der älteren gegenüber einen wichtigen Vorteil für das Wohlbefinden des Tieres dadurch, daß es möglich ist, den Feuchtigkeitsgehalt der Luft im Respirationskasten erheblich unter dem Sättigungswert zu halten. Dies gelingt dadurch, daß die Kalilauge, in der die Absorption der Kohlensäure stattfindet, auf bedeutend niedrigerer Temperatur erhalten wird als der Respirationskasten selbst. Natürlich ist es unter diesen Umständen nötig, die Wasserdampfspannung in der Respirationskammer zu bestimmen und in Rechnung zu stellen. Zu diesem Behufe befindet sich in der Respirationskammer neben dem darin angebrachten Thermometer ein Haarhygrometer, das von außen abgelesen werden kann. Um möglichst rein den Erhaltungsumsatz des Tieres zu bestimmen, wurde die Temperatur des Respirationskastens nach dem Vorgang von Rubner ziemlich hoch gehalten. Es zeigte sich aber sehr bald bei den Versuchen, daß die von Rubner empfohlene Temperatur von 30° für unsere Versuchstiere nicht nur während der Schwangerschaft und Lactation, sondern auch im indifferenten Stadium viel zu hoch war. Sobald die Temperatur im Respirationskasten beim säugenden Tier 26°, beim indifferenten 24° überstieg, begann das Tier zu hacheln, ein Zeichen, daß die physikalische Wärmeregulation notwendig wurde. Nach diesen Erfahrungen wurde in jedem Falle die Temperatur im Kasten so geregelt, daß das Tier gerade ruhig, ohne abnorm hohe Frequenz atmete. Bei den einzelnen Versuchen ist die so zustande gekommene mittlere Temperatur des Kastens angegeben. Die Einzelheiten werden sich aus der folgenden Beschreibung des Versuches vom 8. III. ergeben.

Versuch vom 8. III. 1913.

Das Tier wurde nach reichlicher Fleischfütterung und Säugung der Jungen um 11 Uhr 20 Min. vormittags in den Apparat gebracht und dieser alsbald geschlossen. Das umgebende Wasser wurde bis über den Deckel aufgefüllt, die Anfangstemperatur des Wassers war 26,5°, die im Innern

des Kastens 26,4°. Es wurde nun zunächst aus einer Bombe ein Strom Sauerstoff durch den Apparat geleitet, um den Gehalt an diesem Gase so weit zu erhöhen, daß bis zum Schluß ein wenigstens normaler Sauerstoffgehalt erwartet werden konnte. In den Laugenbehälter waren vorher 2 l Kalilauge von ca. 30% verbracht worden. Diese Lauge wird jetzt nicht mehr wie früher durch eine Pumpe angesogen und in dem Behälter verspritzt, vielmehr durch ein paar an einer horizontalen Achse angebrachte Flügel zerstäubt. Die Achse, an der diese Flügel sitzen, wird von derjenigen bewegt, die die Windflügel zur Erhaltung der Luftzirkulation trägt. Die Übertragung liegt im Innern des Laugenbehälters, so daß jede Undichtigkeit ausgeschlossen ist. Einer solchen wird außerdem noch dadurch vorgebeugt, daß die ganze Einrichtung für die Absorption der Kohlensäure in einem großen Wasserbehälter, dessen Temperatur durch ständig durchfließendes kaltes Wasser, wenn nötig durch Eisstücke, niedrig gehalten wird, sich befindet. Weiterhin ist der Apparat jetzt vervollständigt durch eine Futterschleuse, die die Herren Dr. von der Heide und Tierarzt Klein bei vor meinen Versuchen ausgeführten Untersuchungen an Ferkeln angewendet haben, und welche auch mir zur Fütterung des Hundes zugute kam.

Nachdem einige Zeit der Sauerstoffstrom durch den Kasten unterhalten war, wurde dieser, während ein Überdruck von etwa 15 cm Wasser in ihm herrschte, abgeschlossen und nun die Luftzirkulation durch die Kalilauge begonnen. Nachdem man sich dann durch mehrere Ablesungen von der genügenden Ausgleichung der Temperatur und Feuchtigkeit in den verschiedenen Teilen des Apparates überzeugt hatte, fand um 11 Uhr 34 Min. die Anfangsablesung statt, indem Barometerstand, Kastentemperatur, Stand des am Kasten angebrachten Manometers abgelesen wurde. Das Thermobarometer wurde in meinen Versuchen nicht angewendet. Dann wurde die Luftzirkulation auf einen Moment stillgestellt und eine Doppelprobe der Kalilauge aus dem Absorptionsapparat zur Analyse entnommen, sowie ferner eine größere gemessene Probe (1,29 l) der Kastenluft. Unmittelbar vor dieser Probenahme zeigte das mit Chlorcalciumlösung von 1,36 spez. Gewicht gefüllte Manometer + 5,7 ccm = 5,7 mm Hg.

Ba = 759,2 mm bei 19,2°
T im Kasten . . 26,2°
Hygrometer . . 67%.

In dem Wasser, das den Absorptionsapparat für die Kohlensäure umgibt, T = 16°.

Für die Berechnung kommt in Betracht:

Vol. des Respirationskastens 197 l — 8 l Hund = 189
„ „ Absorptionsapparates 15 l — 2 l Lauge = 13.

Hieraus ergibt sich die mittlere Temperatur der gesamten Luft im Apparat zu

$$\frac{189 \times 26{,}2 + 13 \times 16{,}0}{202} = 25{,}54°.$$

Die Wasserdampfspannung über der 30%igen Lauge rechnen wir bei 16° zu 9,3 mm; im Respirationskasten bei 67% relativer Feuchtigkeit und 26,2° = 25,3 × 0,67 = 17,0 mm. Also mittlere Wasserdampfspannung im ganzen Apparat:

$$\frac{189 \times 17 + 13 \times 9{,}31}{202} = 16{,}5 \text{ mm}.$$

Der Gasdruck berechnet sich durch Abzug von 2,48 mm behufs Reduktion des Barometers auf 0° und 16,5 mm für die Wasserdampfspannung auf 740,2 mm + 5,7 mm Manometerdruck = 745,9 mm. Aus diesem Druck und der Temperatur von 25,54° ergibt sich das auf 0° und 760 mm reduzierte Volumen . . . . . 181,29 l

Die entnommenen 1,29 l sind reduziert . . . . 1,17 l

also Kasteninhalt zu Beginn 180,12 l (0°, 760 mm).

Die Analyse ergab im Mittel:

1,34% CO_2 20,68% O 77,98% N.

Der Versuch wurde um 8 Uhr 38 Min. durch Entnahme einer neuen Gasprobe beendet. Unmittelbar vorher wurden folgende Messungen gemacht:

Manometer + 10,0 cm

Ba 760,2 mm bei 19,5° = 757,7 mm.

T im Kasten = 22°, Hygrometer = 100%.

T im Laugenbehälter = 16°, entsprechend 9,3 mm Wasserdampf.

In derselben Weise wie zu Anfang berechnet sich die mittlere Temperatur der Luft = 21,6°, die mittlere Feuchtigkeit = 19,0 mm, also Gasdruck 757,7 — 19,0 = 738,7 mm + 10 mm Überdruck = 748,7 mm.

Das Gasvolumen von 202 l, zuzüglich zu Anfang entnommener 261 g oder 200 ccm Lauge = 202,2 l[1]) beträgt reduziert = 184,56 l.

Die Analyse dieser Luft ergab:

0,84% CO_2 22,44% O 76,72% N.

Zur Berechnung des während des Versuchs zugeführten Sauerstoffs dienen folgende Daten:

Sauerstoffgasometer, ganz mit Wasser gefüllt, bei 4° . . . 332,75 l

„ mit Sauerstoff zu Anfang des Versuchs bei 21,8° = 141,40, reduziert auf 4° . . . . . 141,55 l

Volumen der Sauerstoffs 191,20 l

Das Gas war genau auf Atmosphärendruck eingestellt, das am Gasometer befindliche Thermobarometer zeigte 106,40 als das Volumen einer bei 0° und 760 mm 95,25 ccm messenden Gasfüllung. Demnach beträgt das Volumen des Sauerstoffs:

$$\frac{191{,}20 \times 95{,}25}{106{,}40} = 171{,}18 \text{ l}.$$

[1]) Eine weitere Volumenänderung tritt nicht ein, da die Lauge zwar durch Wasserabsorption zunimmt, aber das Tier um ebensoviel abnimmt.

Die entsprechende Berechnung der Füllung des Gasometers am Schluß des Versuchs ist 139,60 l. Es sind also in den Atembehälter eingeströmt 31,53 l O (0° und 760 mm).

Dieser Sauerstoff zeigte bei der Analyse folgende Zusammensetzung:

$$0{,}03\,\%\ CO_2 \qquad 3{,}29\,\%\ N \qquad 96{,}68\,\%\ O.$$

Demnach waren mit den 31,53 l eingeströmt:

	10 ccm CO_2	1,037 l N	30,481 l O
Der Kasten enthielt am Anfang	2,414 l CO_2	140,460 l N	37,249 l O
Summa	2,424 l CO_2	141,497 l N	67,730 l O
Am Schluß	1,550 l CO_2	141,600 l N	41,415 l O
Differenz	— 0,874 l CO_2	+ 0,103 l N	— 26,315 l O

Die Analyse der Kalilauge ergab zu Anfang des Versuchs:

$$0{,}797\ g\ CO_2 \text{ in } 100\ g \text{ Lauge.}$$

Der Titre dieser Lauge, bestimmt mit $^n/_{10}$-Schwefelsäure und Phenolphthalein unter Kochen, ergab:

$$1\ g = 5{,}638 \text{ ccm Normalsäure.}$$

Dieselbe Lauge ergab vor der Einfüllung in den Apparat:

$$1\ g = 5{,}742 \text{ ccm Normalsäure.}$$

Die eingefüllten 2 l Lauge wogen 2633 g. Es betrug daher die Menge der Lauge im Moment der Probenahme zu Beginn des Versuchs:

$$\frac{5{,}742 \times 2633}{5{,}638} = 2681\ g;$$

hiervon wurden 261 g zur Probe entnommen, so daß 2420 g für den Versuch blieben.

Der Titre der Endlauge war pro 1 g = 5,475 ccm Normalsäure. Demnach war die Gesamtmenge der Endlauge $= \frac{2420 \times 5{,}638}{5{,}475} = 2492$ g.

Die Endlauge lieferte pro 100 g = 2,58 g CO_2, also in den

$$2492\ g = 64{,}294\ g\ CO_2$$

In der Anfangslauge waren $24{,}20 \times 0{,}797 = 19{,}287$ g CO_2

also von der Lauge aufgenommen = 45,007 g CO_2 = 22,902 l CO_2

Der CO_2-Vorrat im Kasten hatte abgenommen um 0,874 l CO_2

Also vom Tiere geliefert 22,028 l CO_2

Der Sauerstoffverbrauch = 26,315 l, also ist der resp. Quotient

$$\frac{22{,}028}{26{,}315} = 0{,}841.$$

Die Wasserdampfausscheidung ergibt sich wie folgt:

Gewicht der Lauge am Ende	2492 g
„ „ „ „ Anfang	2420 g
Zunahme	72 g
Hiervon CO_2	45 g
also Wasser	27 g

Hierzu kommt die Zunahme des Wasserdampfes im Kasten von

16,5 mm Spannung
auf 19,0 mm „

Zunahme 2,5 mm $= \frac{202 \cdot 2,5}{760} = 0,664$ l Wasserdampf
$= 0,54$ g Wasser.

Wahrscheinlich hat sich entsprechend der Zunahme der Dampfspannung eine größere Menge Wasser an den Wandungen des Apparates und im Fell des Tieres kondensiert, so daß die Zahl 27,5 ein Minimum ist.

Der Versuch dauerte 4 Stunden 4 Minuten, so daß der Gaswechsel pro Stunde betrug 6470 ccm O, 5417 ccm CO_2.

Das Tiergewicht war 8,00 kg.

Demnach Gaswechsel pro Kilogramm und Stunde 0,809 l Sauerstoff und 0,677 l Kohlensäure.

Aus dem Gaswechsel wird die Wärmeproduktion des Tieres in der Weise berechnet, daß die fehlende genaue Bestimmung des Eiweißumsatzes durch die Annahme ersetzt wird, daß der in der Nahrung enthaltene Stickstoff abzüglich 5% für Ausscheidung von Kot und von ca. 7 g N für die in die Milch übergehende Eiweißmenge der Zersetzung anheimgefallen sei. — Der bei dieser Rechnung mögliche Fehler ist unbedeutend, weil der calorische Wert des Sauerstoffes bei Eiweißumsatz nur wenig von dem bei Fett und Kohlenhydrat verschieden ist. Ich habe gerechnet pro 1 l O-Verbrauch

bei Eiweißumsatz . . . . . 4,485 Cal
„ Fettverbrennung . . . . 4,795 „
„ Kohlenhydratverbrauch . 5,058 „

In ähnlicher Weise wurden die übrigen Versuche berechnet und lieferten folgende Werte:

Tabelle I.

Datum	Tiergewicht	Dauer des Versuchs	Mittlere Temp. im Resp.-Kasten	Sauerstoffverbr. pro Min. ccm	Resp. Quot.	Wärmeprodukt. pro Min. Cal	Wärmeprodukt. pro 1 kg u. 24Std. Cal
4.—5.III.	Mutter 8,0—7,85 / Junge 2,06—2,205	22h 11,5′	25,5	129,8	0,809	0,612	87,5
6.	Junge 2,29	4h 29,5′	28,5	34,8	0,856	0,167	105,0
8.	Mutter 8,0	4h 4′	23,1	107,9	0,841	0,512	92,1
14.—15.	„ 8,20—8,30	23h 26′	23,5	101,3	0,770	0,463	80,8
9.—10.IV.	„ 8,45	22h 57′	23,6	90,7	0,798	0,413	70,3

Die Ernährung des Muttertieres war vom 27. II. bis 11. III. 500 g Fleisch, 50 g Reis und 50 g Fett; vom 12. III. bis zum Ende des Versuches wurde dieselbe Menge Fleisch und Reis

aber ohne Fett verabreicht, nur während der Respirationstage, 14. III. und 9. IV., hat das Tier wieder die Fettzulage erhalten, so daß die Verdauungsarbeit an diesen Tagen ganz identisch mit derjenigen während der Lactation war. Die Fütterung erfolgte an den ganztägigen Respirationsversuchen zur Hälfte unmittelbar vor Einsetzung des Tieres in den Kasten, zur Hälfte abends gegen 8 Uhr unter Vermittlung der Futterschleuse. Am 14. III., 2 Tage nach Entfernung der Jungen, enthielten die Brustdrüsen noch Milch und waren stark geschwollen, am 9. IV. waren die Milchdrüsen vollständig zurückgebildet.

Aus den Zahlen der Tabelle I ergibt sich, daß im Vergleich zum Zustande geschlechtlicher Ruhe der Energieverbrauch des Tieres während der Lactation erheblich größer ist. Gegenüber 70,3 Cal pro Tag und Kilogramm im Ruhezustande haben wir bei annähernd 24stündigem Aufenthalt des Tieres im Kasten mit den Jungen und ganz gleicher Fütterung 87,5 Cal, also einen um 24,6 % höheren Wert. Der Versuch vom 14. bis 15. III. stellt gewissermaßen einen Übergang zwischen dem Zustand voller Ruhe und dem der Lactation dar, indem er das Stadium der Rückbildung der Brustdrüsen umfaßt. Hier haben wir 80,8 Cal, d. h. 14,9 % mehr als im Zustande der vollen geschlechtlichen Ruhe. Besonders interessant sind die kurz dauernden Versuche, in denen die Jungen für sich und die Mutter für sich während der Lactationsperiode untersucht wurden, wo hier am 8. III. die Mutter 92,2 Cal pro 1 kg hat, während Mutter und Junge zusammen einen niedrigeren Wert haben als jede der beiden Gruppen für sich. Das erklärt sich in bezug auf den hohen Wert der Mutter am 8. III. daraus, daß das Tier unmittelbar vor dem Versuch reichlich mit Fleisch gefüttert war, daß also die Verdauungsarbeit hier eine größere Rolle spielte als in dem langen Versuch vom 4. bis 5. III.

Für den Vergleich des Stoffwechsels der Mutter und der Jungen ist noch die Reduktion des Verbrauchs auf gleiche Oberfläche wertvoll, die wir dadurch erzielen, daß wir den Gesamtverbrauch jeder der Gruppen durch das Quadrat der dritten Wurzel ihres Gewichts dividieren. Wir begnügen uns mit dem so gewonnenen relativen Wert, weil die Meehsche Konstante der Tiere nicht bekannt ist.

Tabelle II.

Datum	Tier	Wärmeproduktion pro kg u. 24 Std. Cal	Wärmeproduktion durch $p^{\frac{2}{3}}$
6. III.	Junge	105,0	181,8
8.	Mutter	92,1	184,2
14.	Mutter	80,8	163,5
9. IV.	Mutter	70,3	143,1

Das interessante Ergebnis vorstehender Berechnung ist, daß Mutter und Junge zur Zeit der Lactation gleichen Verbrauch für die Oberflächeneinheit aufweisen, daß aber nach Beendigung der Lactation der Wert für die Mutter erheblich zurückgeht.

In weiteren Versuchsreihen wurde mit Hilfe der bei dem Tiere seit längerer Zeit bestehenden Trachealfistel die Lungenatmung in kürzeren Zeitperioden untersucht. Eine erste derartige Reihe wurde zwischen dem 23. und 56. Tage der Schwangerschaft ausgeführt. Die besonders interessante Untersuchung der letzten Schwangerschaftswoche wurde leider durch eine bei dem Tiere aufgetretene fieberlose Tracheitis verhindert. Infolge von Schleimansammlung wurde die Atmung derart unregelmäßig, daß eine Analyse der Atemluft zwecklos erschien. Die Fütterung während der Schwangerschaft war bis zum 2. II. 125 g Fleisch, 45 g Glucose und 25 g Fett; von da ab bei gleicher Fleischmenge 50 g Reis und 30 g Fett. Die Respirationsversuche wurden 22 bis 23 Stunden nach der Fütterung ausgeführt, waren also nicht durch Verdauungsarbeit beeinflußt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Respirationsversuche während der Schwangerschaft.

Datum 1913	Schwangerschaftstag	Tiergewicht	Sauerstoffverbrauch pro Min.	Resp. Quot.	Wärmeproduktion pro Min. Cal	Wärmeproduktion pro kg u. 24 Std. Cal
16. I.	23	9,14	61,9	0,668	0,292	45,9
17.	24	9,12	62,1	0,746	0,293	46,3
21.	28	9,02	57,8	0,752	0,273	43,5
22.	29	9,09	58,3	0,720	0,274	43,5
26.	33	9,10	59,4	0,652	0,280	44,2
29.	36	9,15	60,2	0,680	0,283	44,6
30.	37	9,20	59,3	0,686	0,276	43,2
1. II.	39	9,20	58,6	0,704	0,276	43,2
18.	56	10,07	79,7	0,756	0,387	55,4

Tabelle IV gibt bei der stärkeren, der Lactationsperiode entsprechenden Fütterung (s. S. 129 unten) den Verbrauch des geschlechtlich ruhenden Tieres ebenfalls 22 bis 23 Stunden nach der Fütterung.

Tabelle IV.

Respirationsversuche bei geschlechtlicher Ruhe.

Datum	Tier-gewicht	Sauerstoff-verbrauch pro Min.	Resp. Quot.	Wärmeproduktion pro Min. Cal	Wärmeproduktion pro kg u. 24 Std. Cal
3. IV.	8,50	60,1	0,824	0,269	45,6
4.		56,7	0,787	0,254	43,4
5.	8,35	59,1	0,827	0,265	45,6
7.		57,4	0,777	0,257	44,4
8.	8,50	59,7	0,765	0,268	45,4

Aus dem Vergleich der Tabelle III und IV mit Tabelle I ergibt sich, daß der Verbrauch im Respirationskasten immer ein höherer war, als bei der absoluten Ruhe des durch die Trachealfistel atmenden Tieres.

Letztere Versuche zerfallen in zwei Abschnitte. Der erste, Tabelle III, umfaßt die Zeit vom 23. Tage der Schwangerschaft bis zum 56., d. h. bis zum 8. Tage vor dem Wurf. Zum Vergleich hierzu dienen die Daten der Tabelle IV, die Tage vom 3. bis 8. IV. umfassend, nachdem bereits am 12. III. die Jungen von der Mutter getrennt waren. Der Vergleich dieser Zahlen mit der Tabelle III läßt erkennen, daß in der ersten Hälfte der Schwangerschaft eine Steigerung des Stoffwechsels nicht stattfindet. Das ergibt sich ebensowohl aus dem Sauerstoffverbrauch pro Minute wie aus der auf 1 kg Körpergewicht berechneten Wärmeproduktion in Calorien. Erst in der letzten Schwangerschaftswoche zeigt sich eine erhebliche Steigerung, indem der Sauerstoffverbrauch vom Durchschnittswert von ca. 60 ccm auf 79,7 anwächst und entsprechend die Wärmeproduktion von 0,280 auf 0,387 Cal. Wenn man die Energieproduktion auf 1 kg Körpergewicht berechnet, nimmt sie sogar nach der Mitte der Schwangerschaft etwas ab, um erst in der letzten Woche bedeutend zu steigen. Der Vergleich der Respirationsversuche am tracheotomierten Tiere mit denen im Respirationskasten läßt wiederum erkennen, wie groß der Einfluß der kleinen Bewegungen des Tieres auf den gesamten Um-

satz ist. Denn wir haben in 24stündigem Versuch am geschlechtlich indifferenten Tiere einen Verbrauch von 70,3 Cal pro 1 kg und Tag, während im Zustande absoluter Ruhe dieser Verbrauch nur 44,8 Cal beträgt. Von dem Mehr von 25,5 Cal im 24stündigen Versuch entfallen etwa 12,9 Cal auf die Verdauungsarbeit, so daß immer noch ein Plus von 12,6 Cal für die kleinen Bewegungen des Tieres übrigbleibt. Man wird also auch aus diesen Versuchen wieder den Schluß ziehen müssen, daß der notwendige Stoffumsatz, „der Erhaltungsumsatz", eines Organismus sich viel genauer bei kurzdauernden Respirationsversuchen ergibt als in Kastenversuchen von längerer Dauer. Auch wenn man nach dem Rat von Rubner die Temperatur wählt, bei der die chemische Wärmeregulation sicher ausgeschaltet ist, spielen die unberechenbaren Muskelbewegungen noch eine beträchtliche Rolle. Auffallend erscheinen die sehr niedrigen Quotienten in den kurzdauernden Respirationsversuchen während der Schwangerschaft. Zur Erklärung derselben muß hervorgehoben werden, daß das Tier eine nicht ganz ausreichende Nahrung hatte und infolgedessen gegen Schluß der Schwangerschaft äußerst abgemagert war. Es standen ihm daher in den letzten Stunden vor der Nahrungsaufnahme absolut keine Kohlenhydrate mehr zur Verfügung. Im Gegenteil dürfte es aus Eiweiß eventuell aus Fett Kohlenhydrate gebildet haben, wie dies ja in den Versuchen von Lehmann und Zuntz und anderen als charakteristisch für den Hungerzustand nachgewiesen ist.

Abgesehen von diesen Ergebnissen möchte ich noch als Resultat des Versuches anführen, daß erstens die Stoffwechselsteigerung in der letzten Zeit der Schwangerschaft eine recht erhebliche ist, zweitens, daß die Lactation mit einer verhältnismäßig geringen Steigerung des Stoffumsatzes verbunden ist.

Ich bemerke noch, daß die meisten Versuche der Tabelle III gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Freise, Assistent an der Kinderklinik in Leipzig, ausgeführt wurden. Sie hatten ursprünglich der Lösung einer anderen Aufgabe gegolten.

Zur Frage der Fixation der Digitaliskörper im tierischen Organismus und besonders deren Verhalten zum Blut.

Von

Ernst Oppenheimer.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

Die Beobachtungen von Brandt[1]), Scofone[2]), Yernaux[3]), Cloetta und Fischer[4]), daß bei tödlich mit Digitalis vergifteten Tieren der Giftstoff entweder überhaupt nicht, weder in Organen noch im Blute, oder nur in relativ geringer Menge im Herzen und der Leber wiedergefunden wird, veranlaßten v. Lhota[5]), die Frage des Verhaltens der Digitaliskörper im Organismus neu aufzuwerfen. In seiner letzten Arbeit[6]) teilt er seine Ergebnisse mit, daß Digitoxin selbst in 10fach letaler Dosis, einem Kaninchen intravenös beigebracht, weder chemisch noch physiologisch nachzuweisen ist. Er bringt weiterhin den experimentellen Beweis dafür, daß die letale Dosis eine größere sein muß, je weiter die Applikationsstelle vom Herzen entfernt ist, und daß bei der Verarbeitung der Muskulatur an der Extremität, in die intravenös injiziert wurde, das Gift in größerer Menge zu finden ist als in anderen Körperteilen. Dieses Ergebnis bringt nun den Gedanken sehr nahe, daß Digitoxin, das ja bekanntlich eine sehr schwer lösliche Substanz

[1]) Brandt, Forensische Chemie der Digitalis. Dorpat 1869.

[2]) Scofone, Toxicité comp. de la digitaline. Genf 1894.

[3]) Yernaux, Arch. intern. de Pharmacod. et de Therap. **18**, 117, 1908.

[4]) Cloetta und Fischer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **54**, 294, 1906.

[5]) Lhotak v. Lhota, Arch. intern. de Pharmacod. et de Therap. **20**, 369, 451 und **22**, 61, 1912.

[6]) Derselbe, diese Zeitschr. **48**, 144, 1913.

ist, bei der Injektion, oder wenigstens kurz nachdem es in die Blutbahn gelangt ist, zum Teil ausfällt oder eine physikalisch-chemische Zustandsänderung erfährt, die es dem chemischen oder physiologischen Nachweis mittels der bis dahin üblichen Methoden entzieht. Der Gedanke liegt um so näher, als v. Lhota selbst das schwerlösliche Digitoxin in bezug auf seine Nachweisbarkeit in Gegensatz zu dem leichtlöslichen Strophanthin stellt. Um diese Frage zu prüfen, stellte ich auf Anregung von Herrn Professor Straub Untersuchungen an, zunächst über die Löslichkeitsverhältnisse des Digitoxins in vitro bei verschiedenen Verdünnungen, ferner über die Dialysierfähigket mehrerer Digitaliskörper und über ihr Verhalten im Blut.

In erster Linie mußte untersucht werden, wie weit die Fähigkeit des Digitoxins reicht, aus seiner alkoholischen Lösung in wässerigen Verdünnungen auszufallen. Als Ausgangslösung diente für die Verdünnungsversuche eine $1\,^0/_{00}$ige Digitoxinlösung (Merck) in absolutem Alkohol. Es wurden in Reagensgläsern 2, 3, 5, 10, 20 und 50fache Verdünnungen mit Aqua destillata, mit Ringer- oder $0{,}9\,^0/_0$iger Kochsalzlösung hergestellt und beobachtet, wann eine Veränderung der Lösung eintritt. Erst nach 16 Stunden zeigten sich in der 20fachen Verdünnung, und zwar nur in dieser, sowohl in Ringer wie in Wasser spärliche Krystalle in der charakteristischen Form feinster Nadeln. Im Laufe der nächsten 12 bis 24 Stunden hatten sie beträchtlich an Zahl zugenommen und sich in mehreren strahligen Büscheln angeordnet. In dieser Zeit traten auch in der 10fachen Verdünnung einzelne Krystalle auf, die sich jedoch bei längerem Stehen nicht vermehrten.

Tabelle I[1]).

$1\,^0/_0$ige alk. Digitoxinlös. in	2facher				5facher				10facher				20facher				50facher			
	Verdünnung																			
Fällt aus nach Stunden:	10	16	24	36	10	16	24	36	10	16	24	36	10	16	24	36	10	16	24	36
Verdünnt mit Ringer . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+	++	++	−	−	−	−
„ „ $0{,}9\,^0/_0$ NaCl	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+	++	++	−	−	−	−
„ „ Aqua dest.	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±?	+	−	+	++	++	−	−	−	−

[1]) Das Zeichen + bedeutet, daß Krystallisationsprodukte aufgetreten sind, das Zeichen −, daß keine Veränderung an der Flüssigkeit wahrnehmbar war.

Die Tabelle I läßt die Versuchsresultate überblicken. Digitoxin, das in Alkohol relativ leicht, in reinem Wasser fast unlöslich ist, bleibt also in wässeriger Verdünnung des Dispersionsmittels, des Alkohols, bis zu einer bestimmten Konzentration gelöst. In dieser Konzentration, die der 10 bis 20fachen Verdünnung meiner Versuche entspricht, fällt es zum Teil aus, über diese hinaus bleibt es jedoch wieder in Lösung. Die entsprechende Menge der Trockensubstanz in einer der 50fachen Verdünnung entsprechenden Konzentration zu lösen, gelang mir nicht. Das „gelöst bleiben" scheint also auf Übersättigungserscheinungen zu beruhen, die für die speziell toxikologischen Fragen belanglos sind. Jedenfalls ist die Wahrscheinlichkeit, daß Digitoxin im Tierkörper infolge der durch die Körperflüssigkeiten eintretenden Verdünnung ausfällt, sehr gering.

Zur Untersuchung des physikalisch-chemischen Lösungszustandes der verschiedenen digitalisähnlichen Substanzen wurden die leichtlöslichen Strophanthin (Böhringer) und Antiarin, die schwerlöslichen Digitoxin (Merck) und Gitalin (Böringer, Kraft) in den von Schleicher und Schüll dargestellten, durch das Abderhaldensche Dialysierverfahren bekannten und erprobten Dialysierhülsen geprüft. 3 ccm der $1^0/_{00}$igen Lösung kamen in die Hülsen, die ihrerseits in 20 ccm reiner Ringerlösung standen. Nach 15 bis 16 Stunden wurde 1 ccm der Außenflüssigkeit nach der Methode von Straub[1]) einem Froschherzen gegeben. Mit allen Substanzen trat die typische Digitaliswirkung auf. Es verhielten sich also die verschiedenen Giftlösungen gleichmäßig wie echte Lösungen. Es konnte nachgewiesen werden, daß, wenn statt einer $1^0/_{00}$igen Lösung eine höhere oder niedere Konzentration als Dialysierflüssigkeit gewählt wurde, die Diffusionsgeschwindigkeit mit der Konzentration wuchs. Zur Kontrolle wurde eine $10^0/_{00}$ige Saponinlösung (Saponin albiss. puriss. Merck) zur Dialyse angesetzt. Mit der Außenflüssigkeit konnte die charakteristische, dem Digitalisherzstillstand ähnliche Wirkung des Saponins nie hervorgerufen werden.

Digitaliskörper und Blut.

Zur Frage des Verhaltens der Digitaliskörper im Blut wurden Untersuchungen mit Strophanthin, Antiarin, Digitoxin,

[1]) W. Straub, diese Zeitschr. 28, 392, 1910.

Gitalin, Digitalin puriss. Merck, Digitalinum verum [Kiliani[1])] und Oleandrin (Böhringer) angestellt. Als Ausgangslösung wurde von jedem eine $1\,^0/_{00}$ige Lösung, soweit sie leicht wasserlöslich sind in reiner Ringerlösung, wenn schwer wasserlöslich in Ringerlösung mit Zusatz von 3 bis $5\,^0/_0$igem Methylalkohol, wenn wasserunlöslich in 50 bis $75\,^0/_0$igem Äthylalkohol, vorrätig gehalten und von Zeit zu Zeit frisch hergestellt. Als Testobjekte dienten ausschließlich die Herzen von Rana esculenta, und zwar von Tieren mittlerer und möglichst gleicher Größe. Die Herzen wurden nach der bereits erwähnten Methode von Straub[2]) und seinen Mitarbeitern[3]) behandelt und mit ihrer Nährflüssigkeit gespeist. Die angewandte Giftlösung wurde stets in 1 ccm Flüssigkeit gereicht. Dieser Kubikzentimeter bestand immer aus neun Teilen reiner Flüssigkeit, die als Giftvehikel geprüft werden sollte, und aus einem Teil mit Ringerlösung vorbereiteten, d. h. aus der $1\,^0/_{00}$igen Lösung verdünnten Giftes. Die Mischung wurde, mit Ausnahme der Versuche, zu denen es später besonders vermerkt wird, direkt vor Eingabe in die Herzkanüle hergestellt. Die Herztätigkeit wurde in jedem Falle auf einer Kymographiontrommel mit gleichzeitiger Zeitschreibung registriert.

Als Kriterium der Giftwirkung kann, wie schon Trendelenburg[4]) bemerkt, die Zeit bis zu der, der Digitalisvergiftung eigentümlichen Arrhythmie, Frequenzhalbierung, oder die Zeit bis zum Ventrikelstillstand herangezogen werden. Ich habe mich nur der letzteren bedient, nachdem ich mich überzeugen mußte, daß der Eintritt der Frequenzhalbierung großen individuellen Schwankungen unterliegt, daß der Alternans bei verschiedenen Giften, bei verschiedener und gleicher Konzentration bald plötzlich eintritt, bald sich langsam vorbereitet, einmal lange vor dem Stillstand, einmal kurz vorher sich ausbildet und somit kein vergleichbares exaktes Maß bietet[5]). Ich

[1]) Von Herrn Professor Kiliani freundlichst überlassen.

[2]) Straub, l. c.

[3]) Führer in Abderhaldens biochem. Arbeitsmeth. 5, 1. Wien 1911.

[4]) Trendelenburg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 256, 1909.

[5]) Die Ungleichheit ist wohl durch anatomische Ursachen bedingt, da die außerordentlich komplizierte, buchtige, innere Oberflächenentwicklung dieses ja gefäßlosen Organs jeder ungleichmäßigen Giftverteilung Vorschub leisten muß.

habe ungern auf die Zeit bis zur Rhythmushalbierung als Vergleichsmoment verzichtet, da damit ein leicht faßliches Kriterium auch zur Prüfung und zum Vergleich der Reversibilität der Giftwirkung bei Gegenwart verschiedener Giftvehikel vor der absolut letalen Vergiftung verloren ging.

Als erstes wurde die Toxizität jeder Substanz in Ringerlösung geprüft und die minimal letale Dosis festgestellt. Von dieser ausgehend wurde statt Ringerlösung unverdünntes, frisches, durch Schlagen defibriniertes Kaninchen- oder Ochsenblut (gelegentlich auch Pferdeblut) benutzt. Durch Vorversuche wurde selbstverständlich erst festgestellt, ob die betreffende Nährflüssigkeit die Herztätigkeit an sich beeinflusse. Nur dann wurde sie als Giftvehikel benutzt, wenn nach 10 bis 15 Minuten kein ungünstiger Einfluß auf Contraction und Rhythmus erkannt werden konnte. Ich konnte wie Holste[1]) beobachten, daß das Blut das Herz in gutem Funktionszustand erhält. Das Ergebnis dieser Versuche ist, daß sich ein nur geringer Unterschied der Giftwirkung in Ringerlösung und Blut nachweisen ließ.

Die minimal letale Dosis war im großen und ganzen bei beiden Flüssigkeiten die gleiche. Die Differenzen in den Wirkungsgeschwindigkeiten fallen zum großen Teil in den Rahmen der Schwankungen, die bei physiologischen Versuchsobjekten angenommen werden müssen. Tabelle II gibt meine Versuche mit Ringer und Blut als Vehikel der Giftsubstanz wieder.

Tabelle II.

Versuchsnummer	Substanz	Menge mg	Giftvehikel	Zeit bis Stillstand in Minuten
85a	Digitoxin . . .	0,005	Ringer	30
85b	„ . . .	0,005	Blut	48
6	„ . . .	0,010	Ringer	9½
67	„ . . .	0,010	Blut	16
56	Gitalin . . .	0,040	Ringer	11½
241	„ . . .	0,040	Blut	18
1	Strophanthin . . .	0,001	Ringer	12½
46	„ . . .	0,001	Ringer	17
45	„ . . .	0,001	Blut	9
202	Antiarin . . .	0,010	Ringer	8
207	„ . . .	0,010	Blut	7

[1]) Holste, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 70, 435, 1912.

Diese Versuche stimmen mit den Beobachtungen v. Lhota's[1]), daß 0,01 mg Digitoxin und Strophanthin in 1 ccm Blut in ca. 15 Minuten das Herz zur vollständigen systolischen Contractur bringen, und mit der Konstatierung Yernaux'[2]), der mit 0,1 mg Digitalin in 10 ccm Blut einen Stillstand des Froschherzens erzielte, überein.

Ich ging nun daran, die Toxizität der Digitalisstoffe in dem Blutkörperchenbrei und dem Serum getrennt zu untersuchen. Die Blutkörperchenversuche mußten jedoch bald aufgegeben werden, da der dickflüssige Brei eine genügende Selbstspülung nicht gestattete, so daß keine einwandfreien Resultate erzielt werden konnten. Dagegen konnten die Versuche mit Serum leicht angestellt werden. Reines, frisches, durch Zentrifugieren gewonnenes Serum hat, wenn es einem Herzen, das mit Ringer gespeist war, gegeben wird, keine ungünstige Wirkung[3]). Es tritt im Gegenteil eine geringe Frequenzbeschleunigung ein, die Contractionen werden vollständiger, die Muskulatur verliert in der Diastole vollkommen ihren Tonus, der bei nicht genügend mit Luft durchspülter Ringerlösung auftritt. (Ein Vorgang, der sich durch stärkere Eigenbewegung des Hebels kundgibt.) Kleine Irregularitäten werden prompt aufgehoben, und das Herz schlägt in dieser Regelmäßigkeit über eine Stunde ohne Wechsel der Nährflüssigkeit weiter. Wurde nun das Serum in gleicher Weise wie bei den obigen Versuchen mit Ringer und Blut (0,9 ccm Serum + 0,1 ccm verdünnte Giftlösung) als Giftvehikel benutzt, so konnte ich folgende überraschenden Beobachtungen machen: Die minimal letalen Dosen der wasserunlöslichen oder schwerlöslichen Gifte in Ringer und Blut waren im Serum bis zur 5 und 6fachen Zeit gänzlich wirkungslos. Größere Mengen ließen erst in der 3 und 4fachen Zeit, in der sie in Ringer die vollkommene Herzvergiftung bewirkten, Zeichen einer beginnenden

[1]) v. Lhota, l. c.

[2]) Yernaux, l. c.

[3]) Die einzige Voraussetzung für die günstige Wirkung ist, daß das Blut vorher nicht hämolysiert war, und daß das Serum hämoglobinfrei ist. Im anderen Falle kann man regelmäßig am Herzen einen Stillstand beobachten, der dem der Kalivergiftung entspricht (Diastole und Reversibilität), der wohl auch durch die in den Blutkörperchen enthaltenen Kalisalze hervorgerufen wird.

Vergiftung wahrnehmen. Bevor ich auf diese Beobachtung und deren Folge näher eingehe, seien die Resultate der Versuche angeführt.

Tabelle III.

Versuchs-Nummer	Substanz	Menge mg	Giftvehikel	Zeit bis Stillstand Min.	Versuchsdauer Min.	Besondere Bemerkungen
85 a	Digitoxin	0,005	Ringer	30	—	
86	„	0,005	Serum	—	50	Ohne eine Spur von Wirkung
6	„	0,010	Ringer	9½	—	
66	„	0,010	Serum	—	25	do.
75	„	0,010	Ringer	8½	—	
76	„	0,010	Serum	—	25	do.
222	„	0,010	Ringer	8½	—	
223	„	0,010	Serum	—	60	Nach 32 Minuten Alternans, während des ganzen Versuchs beibehalten
112	„	0,020	Ringer	5½	—	
87	„	0,020	Serum	—	30	Ohne eine Spur von Wirkung
115	„	0,020	Ringer	5	—	
89	„	0,020	Serum	—	50	Nach 50 Minuten Eintritt des Alternans
221	„	0,020	Ringer	5	—	
220	„	0,020	Serum	—	50	Nach 26 Minuten Alternans
224	„	0,020	Ringer	9	—	
225	„	0,020	Ringer	5½	—	
226	„	0,020	Serum	18	—	
100	„	0,050	Ringer	4½	—	
228	„	0,050	Serum	17	—	
56	Gitalin	0,040	Ringer	11½	—	
60	„	0,040	Serum	—	20	Ohne eine Spur von Wirkung
64	„	0,040	Ringer	11	—	
128	„	0,040	Serum	—	36	do.
178	„	0,080	Ringer	6½	—	
181	„	0,080	Serum	43	—	
218	„	0,100	Ringer	4½	—	
211	„	0,100	Serum	35½	—	
136	Digitalin (Kiliani)	0,02	Ringer	6½	—	
139	„	0,02	Serum	—	25	Langsame Verkürzung der Systolenhöhe
140	„	0,02	Serum	—	20	Obwohl nach 2½ Minuten Arrhyth. keine max. Wirkung
144	„	0,04	Ringer	8	—	
143	„	0,04	Serum	—	20	Ohne eine maximale Wirkung Arrhyth. 2½ Minuten
146	„	0,04	Serum	—	35	Nach 17½ Min. Arrhyth.
149	„	0,08	Ringer	5	—	
148	„	0,08	Serum	17	—	
166	„	0,10	Ringer	4½	—	
165	„	0,10	Serum	16	—	
174	„	0,10	Ringer	3½	—	
173	„	0,10	Serum	4½	—	
176	„	0,10	Ringer	3	—	

Tabelle III (Fortsetzung).

Versuchs-Nummer	Substanz	Menge mg	Giftvehikel	Zeit bis Stillstand Min.	Versuchsdauer Min.	Besondere Bemerkungen
175	Digitalin (Kiliani)	0,10	Serum	$6^1/_2$	—	
153	„	0,20	Ringer	2	—	
155	„	0,20	Serum	$1^1/_2$	—	
160	„	0,20	Serum	2	—	
162	Digitalin (Merck)	0,40	Ringer	$1^1/_2$	—	
161		0,40	Serum	—	25	15 Minuten Alternans
186	Oleandrin	0,10	Ringer	12	—	
187		0,10	Serum	85	—	
206		0,20	Ringer	$6^1/_2$	—	
205		0,20	Serum	$18^1/_2$	—	
217		0,20	Serum	22	—	

Vergleicht man die Vergiftungszeiten bei den in Ringer und Serum gegebenen gleichen Giftmengen, so ergibt sich bei allen in der Tabelle angeführten Substanzen die gleiche Erscheinung: Eine gänzlich aufgehobene oder stark verzögerte Giftwirkung im Serum, wenn man die Wirkungszeiten bei der Ringer-Giftlösung als ein natürliches Vergleichsmoment heranziehen darf.

Aus der Tabelle geht ferner hervor, daß die Wirkungszeiten (vom Moment der Einführung bis zum Stillstand) bei Serum als Giftvehikel mit steigender Konzentration des Giftes zwar rascher fallen als bei Ringerlösung, aber erst bei einer relativ hohen Konzentration in beiden Flüssigkeiten die gleichen sind. Auf diese Erscheinung wird später noch zurückzukommen sein.

In der Literatur konnte ich keine direkten Angaben über das Verhalten der Digitalisglykoside zum Serum finden. Nur Wernischin[1]) stellte bei seinen Untersuchungen über die diastolische Herzwirkung der Digitalisgruppe Versuche mit teils verdünntem, teils unverdünntem Serum an. Er kommt in seiner Zusammenfassung allerdings zu einem entgegengesetzten Ergebnis. Er sagt: „Bei Gegenwart von Serum-

[1]) Wernischin, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **60**, 328, 1909 und **63**, 1910.

bestandteilen wirkt schon eine geringere Konzentration von Strophanthin und Digitoxin so stark wie eine mehrfach höhere Konzentration in einer Salzlösung.“ Zu diesem Resultat gelangt er durch Beobachtungen über den Herzstillstand, ob er in Systole oder Diastole eintritt. Die Wirkungszeiten läßt Wernischin bei seinen Schlußfolgerungen, wenigstens für Digitoxin, ganz außer acht. In seinen Tabellen finden sich jedoch diese angegeben und stimmen bei näherer Betrachtung mit meinen Resultaten überein. Ein Vergleich der Tabellen I und II auf S. 334 mit den entsprechenden Tabellen auf S. 337 und 338 der Wernischinschen Arbeit vermag das deutlich zu zeigen:

Digitoxin	0,05	in	1/2	Kaninchenblut	1/2	Ringer	führen in	2h 15′ zum Stillstand
„	0,05	„	0,6%	iger NaCl-Lösung			„ „	50′ „ „
„	0,06	„	1/2	Blut	1/2	0,7% iger NaCl-Lös.	„ „	1h 55′ „ „
„	0,06	„	1/2	Serum	1/2	0,6% iger „	„ „	1h 50′ „ „
„	0,06	„	1/2	Blut	1/2	0,7% iger „	„ „	55′ „ „
„	0,06	„	1/2	Ringer	1/2	0,6% iger „	„ „	15′ „ „
„	0,06	„	0,6	„	1/2	0,6% iger „	„ „	25′ „ „
„	0,08	„	3/4	„	1/4	Aqua	„ „	37′ „ „
„	0,08	„	1/4	Serum	3/4	Ringer	„ „	30′ „ „
„	0,08	„	1/5	„	4/5	„	„ „	15′ „ „

Die Versuche sind mit 50 ccm Durchströmungsflüssigkeit am Williamschen Apparat ausgeführt.

Aus diesen Zahlen spricht eine deutlich protrahierte Wirkung des Digitoxins bei Zusatz von Blut und Serum. Der Widerspruch in den Wernischinschen Angaben findet seine Erklärung erstens in der Beobachtung, daß der systolische Stillstand bei der Gegenwart von Serum tatsächlich begünstigt wird — eine Frage, auf die meine Versuche mir nicht erlauben, näher einzugehen —, zweitens aber in den Eigenschaften des Strophanthins, mit dem Wernischin die größere Anzahl von Versuchen gemacht hat. Auch ich habe mit dieser Substanz und dem ihm in bezug auf seine Löslichkeit und seine Krystallisationsfähigkeit ähnlichen Antiarin experimentiert. Tabelle IV gibt diese Versuche wieder. Aus diesen ergibt sich wie bei Wernischin, daß die Giftwirkung des Strophanthins im Serum größer ist als in Ringer, obwohl diese Förderung bei meiner Versuchsanordnung nicht so deutlich hervortritt wie die protrahierende Eigenschaft des Serums bei den echten Digitalisglykosiden.

Tabelle IV.

Vers. Nr.	Substanz	Menge mg	Giftvehikel	Zeit bis Stillstand Min.
80	Strophanthin	0,01	Ringer	6
79	„	0,01	Serum	6 1/2
232	„	0,01	Ringer	14
231	„	0,01	Serum	11
233	„	0,05	Ringer	9 1/2
235	„	0,05	Ringer	11 1/2
234	„	0,05	Serum	8
78	Antiarin	0,01	Ringer	17
77	„	0,01	Serum	5 1/2
202	„	0,01	Ringer	8
203	„	0,01	Serum	5

Ein Vergleich der Tabelle III und IV läßt den Unterschied im Verhalten der beiden angeführten Gruppen von Substanzen klar erkennen. Dort eine bedeutende Wirkungshemmung, hier eine — wenn auch geringe und ungleichmäßige — beschleunigende Tendenz gegenüber Ringerlösung.

In der Literatur ist der allgemeine Unterschied im physiologischen Verhalten zwischen den krystallinischen, wasserlöslichen und den größtenteils amorphen, wasserunlöslichen Glykosiden mehrfach zutage getreten. Cloetta und Fischer[1]), auch v. Lhota[2]), finden Digitalisstoffe nach Darreichung großer Dosen bis zu einem gewissen Prozentsatz im Herzen und der Leber. Dem widerspricht Clark[3]) und beweist experimentell in vitro und in vivo, daß mit Ausnahme der roten Blutkörperchen kein Gewebe die Digitalisglykoside „absorbiere". Erklärt wird diese Meinungsverschiedenheit dadurch, daß Clark und mit ihm Hatscher[4]), auf dessen Ergebnisse Ersterer sich beruft, mit Strophanthin gearbeitet haben. Auch die Arbeiten von Schmiedeberg[5]), Holste[6]), Straub[7]), Grünwald[8]) und

[1]) Cloetta und Fischer, l. c.

[2]) v. Lhota, l. c.

[3]) Clark, Journ. of Pharmacol. and experim. Therapeut. 4, 5, 1913.

[4]) Hatcher, Journ. of Physiol. 23, 303, 1908.

[5]) Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, 305, 1910.

[6]) Holste, l. c. und Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 70, 439, 1912.

[7]) Straub, l. c. und Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 139, 1913.

[8]) Grünwald, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 68, 231, 1912.

Weizsaecker[1]), die sich mit der Frage der Speicherung der Digitalisgifte und mit dem Mechanismus der Giftbindung beschäftigen, führen zu dem Ergebnis, daß in der Art und Weise der Wirkung zwischen Strophanthin einerseits und Digitalin, nebst den zur gleichen Gruppe gehörigen Substanzen andererseits ein Unterschied bestehen muß. Nach v. Lhota „verschwindet" Digitoxin nach intravenöser Injektion sofort aus dem Blute, während sich Strophanthin fast quantitav nachweisen läßt. Eine prinzipielle Ungleichheit der sich in den Vergiftungssymptomen als gleichartig dokumentierenden Gifte der verschiedenen Gruppen muß in bezug auf ihr Verhalten zu Körperflüssigkeiten, in bezug auf ihre Wechselbeziehungen mit dem Organismus als erwiesen gelten. Nach dieser Feststellung scheint es mir berechtigt, den Wirkungsmechanismus, der bisher stets gemeinsam oder wenigstens unter ein und demselben Gesichtspunkt betrachteten Digitalisglykoside getrennt nachzugehen. Eine Forderung, die übrigens auch schon Weizsaecker aufstellt.

Gestützt darauf, läge es nun nahe, in den Ergebnissen meiner Versuche eine Erklärung der Beobachtungen von v. Lhotas zu suchen. Man ist geneigt anzunehmen, daß die Unnachweisbarkeit des einmal in den Tierkörper gelangten Digitoxins auf dem gleichen oder wenigstens ähnlichen Vorgang beruht, wie er sich in vitro mit Gift und Serum, wo ein „Verschwinden" oder eine Fixation an Zellen eo ipso ausgeschlossen ist, abspielt. Der Parallelismus in der Erscheinung: Strophanthin in den beiden verschiedenen Versuchsanordnungen nachweisbar, Digitoxin nicht, spräche dafür. Diese Annahme hieße das Serum oder die Körperflüssigkeiten der Versuchstiere v. Lhotas allein für das „Verschwinden" bzw. für die Unnachweisbarkeit des Digitoxins verantwortlich machen. Aber die Tatsache spricht schon dagegen, daß die im Serum unwirksame Dosis Digitoxin im Blute, das 50 bis 57 Vol.-% Serum enthält, Vergiftungserscheinungen hervorruft. Dagegen sprechen auch die Versuche v. Lhotas, dem es nicht gelang, ein mit letaler Dosis Digitoxin vergiftetes Kaninchen durch

[1]) Weizsaecker, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, 282 und 345, 1913.

eine kurz nach der Injektion erfolgte größere Blutentnahme und Infusion frischen Blutes zu retten.

Soll zwischen v. Lhotas und meinen Beobachtungen ein Zusammenhang gefunden werden, so muß in erster Linie der Ursache nachgegangen werden, die das dem Serum zugesetzte Digitalisgift unauffindbar und wirkungsschwach machen. Als Ursache können dabei in Betracht kommen: rein chemische Vorgänge oder eine physiko-chemische Zustandsänderung.

Eine totale Änderung, etwa Spaltung usw., des Glykosidmoleküls schien a priori ausgeschlossen. Der Gedanke an eine chemische Reaktion im Sinne einer Affinitätssättigung liegt schon näher. Es mußte an eine Erscheinung gedacht werden ähnlich der, wie sie die Entgiftung des hämolysierenden Saponins durch Cholesterin darstellt, besonders nachdem Karaúlow[1]) die Entgiftung glykosidischer Herzgifte durch Cholesterin nachgewiesen hat. Ich mußte, obwohl der Cholesteringehalt des Serums ein so verschwindend kleiner ist, um so mehr die Cholesterinfrage in Betracht ziehen, als ich feststellen konnte, daß das am Froschherzen digitalisartig wirkende Saponin ebenfalls total durch das Serum entgiftet wird. 0,5 mg Saponin bringen in Ringer das Froschherz in weniger als einer halben Minute zum systolischen Stillstand. Bei derselben Menge in Serum gegeben schlägt das Herz unverändert weiter und zeigt selbst nach 20 Minuten nicht die geringste Änderung seiner Tätigkeit. Eine entsprechende Beobachtung machte vor kurzem Lummerzheim[2]) unter Riesenfeld. Er fand bei der Bestimmung der Dissoziationskonstante einer Cyclamin-Cholesterinverbindung, daß die Gegenwart von Serum schon allein imstande ist, das Cyclamin als Hämolytikum zum Teil zu entgiften.

In Anlehnung an die Methode von Lummerzheim, unterstützt durch gütige Ratschläge seitens Herrn Professor Riesenfeld, unternahm ich deshalb Versuche mit Ringerlösung, in der Cholesterin in beträchtlicher Menge suspendiert war. 0,375 g gereinigten Gallencholesterins werden in 25 ccm absoluten Alkohols gelöst. Es entspricht dies ungefähr der konzentrierten Lösung bei Zimmertemperatur. Von dieser Lösung werden dann kurz vor

[1]) Karaúlow, diese Zeitschr. **32**, 145, 1911.

[2]) Lummerzheim, Die hämolytische Wirkung von Cyclamin-Cholesterin-Mischungen. Inaug.-Diss. Upsala-Stockholm 1913.

dem Gebrauch 0,5 ccm mit einer sorgfältig gereinigten Spritze in 25 ccm Ringerlösung rasch eingespritzt. Die Ringerlösung erhält dabei sofort ein milchigtrübes Aussehen, ohne daß eine grobe Ausflockung stattfindet. Nichtsdestoweniger wurde diese Suspension filtriert. Von einem mehrstündigen Aufenthalt der Suspension in der Wärme, wie es Lummerzheim vorschreibt, sah ich ab, da es bei meinen mehr qualitativen und kürzeren Versuchen nicht auf eine längere Haltbarkeit der Suspension ankam. Der ungünstige Einfluß dieser Ringer-Cholesterinlösung in ihrer Eigenschaft als Nährflüssigkeit war auf die Herztätigkeit unerheblich, so daß die Versuche mit ihr als Giftvehikel als einwandfreie gelten können.

Tabelle V.

Vers. Nr.	Substanz	Menge mg	Giftvehikel	Zeit bis Stillstand Sek.	Vers.-Dauer Min.	Bemerkungen
123	Digitoxin	0,01	Ringer	9		
223	„	0,01	Serum	—	60	Nach 32 Min. Alternans keine max. Wirkung.
124	„	0,01	R.-Cholesterin	12		
136	Gitalin	0,02	Ringer	6½		
137	„	0,02	R.-Cholesterin	5		
138	„	0,02	„	5		Nach 14 Std. Aufenthalt im Thermostaten 40°.
128	„	0,04(!)	Serum	—	36	Ohne eine Spur von Wirkung.
162	Digitalin (Merck)	0,40	Ringer	1½		
163	„	0,40	R.-Cholesterin	1½		
168	„	0,40	„	3½		Nach 14 Std. Aufenthalt im Thermostaten 40°.
161	„	0,40	Serum	—	25	15 Min. Alternans keine max. Wirkung.
186	Oleandrin	0,10	Ringer	12		
188	„	0,10	R.-Cholesterin	8		
187	„	0,10	Serum	85		
206	„	0,20	Ringer	6½		
207	„	0,20	R.-Cholesterin	6½		
212	„	0,20	„	7		Nach 14 Std. Aufenthalt im Thermostaten 40°.
205	„	0,20	Serum	18½		
190	Saponin	0,50	Ringer	½		
189	„	0,50	R.-Cholesterin	1		
196	„	0,50	„	3½		Nach 14 Std. Aufenthalt im Thermostaten 40°.
190	„	0,50	Serum	—	30	Ohne eine Spur von Wirkung.

Wie die Tabelle zeigt, ist der Einfluß des Cholesterins recht unbedeutend.

Es war vorauszusagen, daß der geringe Gehalt an Cholesterin in normalem Serum nicht die entgiftende Substanz in dieser

Flüssigkeit sein könne. Die Annahme wird experimentell bestätigt. Man könnte einwenden, daß das Cholesterin in meiner Versuchsanordnung nicht reaktionsfähig ist. Dies widerlegt am deutlichsten das Resultat des Versuchs mit Saponin, das zum Teil nach längerem Aufenthalt in der Wärme entgiftet worden ist. Die totale Vergiftung ist nach Aufenthalt der Ringer-Cholesterin-Saponin-Mischung im Thermostaten um die 6fache Zeit hinausgeschoben. Was bedeutet aber diese geringe Verzögerung gegenüber der im Serum? Karaúlow hat bei andersartiger Bearbeitung des Giftes mit Cholesterin fast vollständige Entgiftung gesehen. Ich mußte bei meiner Versuchsanordnung bleiben, da mir daran lag, möglichst Bedingungen zu schaffen, die der äußerst rasch einsetzenden Entgiftung im Serum entsprochen hätten. Lummerzheim kommt übrigens auch auf Grund mathematisch-chemischer Überlegungen zu dem entsprechenden Resultat, daß das Cholesterin des Serums nicht die antihämolytische Fähigkeit bedinge; er meint, daß diese auf die Anwesenheit anderer Stoffe zurückzuführen sei.

An andern Stoffen kommen für unsere Fragestellung das Eiweiß und die Lipoidsubstanzen in Betracht. Mit beiden stellte ich Versuche an. Die Frage, ob das Serumeiweiß irgendwelche Rolle bei dem Entgiftungsprozeß spielt, hätte am besten beantwortet werden können, wenn wir eine Methode hätten, das Serum so zu enteiweißen, daß die übrigen Stoffe in dem natürlichen Zustande erhalten blieben. Eine solche Methode konnte ich in der Literatur nicht finden. Versuche, die ich mit nach Rona und Michaelis[1]) enteiweißtem Serum, das nicht nur das kolloidale Eiweiß, sondern alle kolloid gelösten Substanzen verloren hat, anstellen wollte, mußten aufgegeben werden, da das Froschherz nach Eingabe dieser Flüssigkeit nach 3 bis 4 Schlägen schon diastolisch stillstand. Eine Erscheinung, die wohl auf der, wie aus der Literatur hervorgeht, eintretenden partiellen Entsalzung beruht. Daraufhin stellte ich eine künstliche Eiweißlösung in Ringer her, in der die Herzen zufriedenstellend schlugen. Hühnereiweiß wurde über Nacht gegen fließendes Wasser dialysiert, im Vakuum auf sein ursprüngliches Volumen gebracht und dann mit dem gleichen

[1]) Rona und Michaelis, diese Zeitschr. 7, 227, 1908.

Teil einer Doppel-Ringerlösung versetzt und filtriert. Die Wirkung der Digitalisglykoside in der Ringer-Eiweißlösung geht aus Tabelle VI hervor.

Tabelle VI.

Vers. Nr.	Substanz	Menge mg	Giftvehikel	Zeit bis Stillstand Min.
218	Gitalin	0,10	Ringer	$4^1/_2$
216	„	0,10	R.-Eiweiß	5
211	„	0,10	Serum	$35^1/_2$
178	„	0,08	Ringer	$6^1/_2$
182	„	0,08	R.-Eiweiß	16
181	„	0,08	Serum	43
186	Oleandrin	0,10	Ringer	12
209	„	0,10	R.-Eiweiß	$9^1/_2$
187	„	0,10	Serum	85
206	„	0,20	Ringer	$6^1/_2$
208	„	0,20	R.-Eiweiß	$10^1/_2$
205	„	0,20	Serum	$18^1/_2$
190	Saponin	0,50	Ringer	$^1/_2$
185	„	0,50	R.-Eiweiß	$^1/_2$
190	„	0,50	Serum	(30 Min. wirkungslos)

Die Resultate sind äußerst uneinheitliche. Bei einigen Versuchen ist eine deutliche Verzögerung zu konstatieren, die aber nie so groß ist, um mit der Gifthemmung im Serum in Beziehung gesetzt werden zu können.

Zu demselben uneinheitlichen Ergebnis gelangte ich bei den Versuchen mit Lecithin. Eine Feststellung, die wohl auch dem unklaren Bilde, das wir von den Lipoiden und Lecithinen, deren chemischer Zusammensetzung und deren biologischer Bedeutung haben, entsprechen dürfte. Die zwar nicht aufgeklärten, aber unleugbaren Beziehungen, die die Lipoide zur Hämolyse, zu verschiedenen Vorgängen auf dem Gebiete der serologischen Forschung[1]) haben, vor allem ihre pharmakodynamische Bedeutung, die ihnen die Meyer-Overtonsche Narkosetheorie beilegt, ließen es immerhin möglich erscheinen, daß die Lipoide des Serums die Inaktivierung der Digitalisglykoside bedingen. Erst jüngst zeigt eine Arbeit von Handschmidt[2]), daß Lecithininjektionen imstande sind, verschiedene Gifte abzu-

[1]) Vgl. dazu Landsteiner in Oppenheimers Handb. d. Chem. Jena 1909, II, 1.

[2]) Handschmidt, diese Zeitschr. 52, 3, 1913.

schwächen oder ganz unwirksam zu machen, und die Wirkung anderer zu beschleunigen. Da mir dieselben Erscheinungen — Hemmung und Beschleunigung — begegnet waren, hielt ich es für angebracht, auch diese Frage experimentell zu prüfen. Eine Reihe von Versuchen wurde mit Lecithin puriss. ex ovo Merck angestellt, nach der entsprechenden Methode, wie vorher das Cholesterin verarbeitet wurde. Die Resultate anzuführen, kann ich mir ersparen. Die Zahlen und damit die Folgerungen würden das gleiche Bild geben wie die Tabelle mit Ringer-Cholesterin und Ringer-Eiweiß.

Die Versuche, die ich zur Aufklärung des Vorgangs, der sich zwischen dem Digitalisglykosid und Serum abspielt, angestellt habe, kommen somit zu einem in keiner Weise befriedigenden Abschluß. Es läßt sich daher aus meinen Versuchen einstweilen keine endgültige Erklärung der Versuche v. Lhotas ableiten.

Einige Versuche, die zwar das negative Ergebnis der vorangegangenen in keiner Weise berühren, aber immerhin ein neues eigenartiges Licht auf die Vorgänge im Serum werfen, will ich nicht unerwähnt lassen. Es ist bekannt[1]), daß der basische Farbstoff Methylviolett am isolierten Froschherzen dieselben Erscheinungen hervorruft, wie die Lösungen der Digitalisgifte, wobei das Herz eine intensiv violette Färbung annimmt und die Ringer-Lösung, das gewöhnliche Giftvehikel, entfärbt wird. Ich habe feststellen können, daß 0,2 mg Methylviolett, die in Ringer das Herz in 4 Min. zum systolischen Stillstand bringen, im Serum erst nach 21 Min. eine vollständige Vergiftung hervorrufen. Die Vergiftung ist in beiden Versuchen nur zum Teil reversibel. Ferner beobachtete ich, daß in der Herzkanüle eine Lösung Methylviolett 1:100000 in Ringer, die ich einem gut schlagenden Herzen gab, nach 40 Min. vergleichsweise die Farbe einer halb so starken Konzentration hatte, nach 4 Stunden so gut wie vollständig entfärbt war. Das Herz war dabei jedesmal entsprechend elektiv dunkler gefärbt. Im Serum verhielt sich die gleiche Konzentration folgendermaßen: Nach 40 Min. keine Abnahme der Färbungs-

[1]) Führer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 164, 1908. — Sluytermann, Zeitschr. f. Biol. 57, 1911.

intensität in der Nährflüssigkeit bemerkbar; das Herz hat in der Systole absolut normale Farbe, in der Diastole wird es infolge der Ventrikelfüllung dunkler. Nach 4 Stunden hat das Herz auch in der Systole einen schwach violetten Grundton; die darüber stehende Flüssigkeit in der Kanüle ist um ein Geringeres heller als im Anfang des Versuchs, aber bei weitem nicht so hell, wie die halb so starke Konzentration. Nach 16 Stunden — das Herz ist in der Zwischenzeit diastolisch stehen geblieben — zeigt das Serum nur noch einen geringen violetten Farbenton.

Das Serum kann also das giftige Methylviolett zurückhalten, dessen Wirkung verzögern. Da wir es mit einem Farbstoff zu tun haben, liegt es wohl am nächsten, bei diesem Vorgang von einer Adsorption zu sprechen[1]). Die Fähigkeit des Serums, das Gift festzuhalten, so daß es nicht zu seiner Wirkung kommt, ist aber keine unbegrenzte. Die „Adsorption" ist absolut reversibel. (Im Gegensatz zur Färbung des Herzens.) Das Froschherz kann, wenn auch in entsprechend längerer Zeit, dem Serum wieder das Gift entreißen und selbst — wenn der Ausdruck statthaft ist — das Methylviolett adsorbieren, wie die Entfärbungsversuche zeigen.

Solche Beobachtungen führen mich wieder zu den Erscheinungen zurück, die ich bei den Betrachtungen des Verhaltens des Digitoxins und anderer Körper zum Serum schon dargelegt habe. Ist er hierbei auch nicht erlaubt, einen Adsorptionsvorgang wie beim Methylviolett anzunehmen, so muß doch die Gleichartigkeit der Erscheinung hervorgehoben werden. Wir haben weiter oben gesehen, daß die Giftwirkung durch das Serum aufgehoben wird, daß aber die Entgiftung keine vollständige ist, daß unser Testobjekt bei genügend langer Einwirkung gleichgültig, mit welcher Menge Glykosid doch vergiftet wird. Bei sehr kleinen, den in Ringer minimal letalen Dosen, ist das praktisch nicht zu zeigen, aber die Erscheinungen mit größeren Mengen müssen darauf schließen lassen. Folgende Überlegung soll dies klar machen: Nehmen wir an, eine ganz bestimmte Menge a des Giftes, die größte, die das Serum festzuhalten vermag, werde durch das Serum gänzlich außer Stand

[1]) Vgl. Michaelis in Oppenheimers Handb. d. Biochem. Jena 1909, II, 1.

gesetzt, seine Wirkung zu entfalten; dann müßte die Menge n der oben angenommenen, sagen wir — ohne tiefere Bedeutung — gesättigten Menge in der Zeit maximal wirken, in der die Menge $(n - a)$ in Ringer es tut. Dem ist aber nicht so, wie Tabelle III zeigt, sondern das Serum vermag seine hemmende Wirkung auch auf Mengen auszudehnen, die weit über den Dosen liegen, die für diese Flüssigkeit als minimal letale gefunden worden sind. Wir müssen also sagen, daß das Serum, abgesehen von den relativ sehr hohen Konzentrationen, eine unbegrenzte Fähigkeit, das Digitalisgift zeitweise auf irgendeine Weise zu binden, besitzt, daß diese Bindung aber eine so lockere ist, daß gewisse Eigenschaften des Herzens sie langsam zu lösen vermögen. — Damit fällt auch die Möglichkeit weg, daß sich der Entgiftungsvorgang als eine Sättigung im Sinne einer chemischen Molekülreaktion darstellt. Wir müßten uns denn eine äußerst starke dissoziierte Bindung der Giftserumstoffe vorstellen, die auf einer leicht umkehrbaren Reaktion beruht. Dies ist aber bei den hochmolekularen, schwer reaktionsfähigen Glykosiden, ferner bei der Tatsache, daß, wie wir gerade gesehen haben, die Reaktion nicht bestimmten chemischen Gesetzen folgen würde, unwahrscheinlich. Es liegt am nächsten anzunehmen, daß der Vorgang, auf dem die Giftaufnahme durch das Serum beruht, gleichwertig ist dem Mechanismus, der der Aufnahme des Giftes im Herzen zugrunde liegt. Die Methylviolett-Versuche scheinen mir mit großer Wahrscheinlichkeit darzutun, daß wir es in beiden Fällen mit physiko-chemischen Vorgängen zu tun haben. Die im Serum suspendierten Teilchen könnten bei der enormen Oberflächenbildung einer kolloidalen Lösung zwischen disperser Phase und Dispersionsmittel[1]) das Glykosid adsorbieren und es den Oberflächen der Zellen im Herzen abgeben, die die gleiche Fähigkeit besitzen, bis sich ein Adsorptionsgleichgewicht entwickelt hat. Diese Annahme, die sich aus meinen Versuchen andeutungsweise ableiten ließ, sicher zu beweisen oder wenigstens wahrscheinlicher zu machen, den Vorgang der Glykosidvergiftung und -entgiftung als Grenzflächenwirkung darzustellen, können aber, wenn überhaupt, nur Experimente rein physiko-chemischer Natur.

[1]) Vgl. Höber, Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. III. Aufl. Leipzig 1911.

Zusammenfassung.

1. Das schwer lösliche Digitoxin fällt in wässerigen Verdünnungen nur langsam aus.

2. Die Lösungen der amorphen, schwer löslichen Digitalisglykoside sind dialysierbar und verhalten sich dabei wie echte Lösungen, wie die leicht löslichen, krystallinischen Substanzen Strophanthin und Antiarin.

3. Das Serum als Giftvehikel vermag die Vergiftung von Digitoxin, Gitalin, Digitalin, Oleandrin, Saponin, Methylviolett aufzuheben oder stark zu verzögern.

Die Wirkung von Strophanthin und Antiarin scheint eine Begünstigung durch Serum zu erfahren.

4. Zu den in der Literatur gefundenen Kriterien, die für eine prinzipielle Scheidung der krystallinischen, leicht löslichen, reinen Stoffe (Strophanthin und Antiarin) von den schwer krystallisierbaren, schwer löslichen Substanzen (Digitoxin usw.) sprechen, treten als neues unzweideutiges Argument die unter 3. erwähnten Erscheinungen im Serum.

5. Cholesterin, Hühnereiweiß oder Lecithin in Ringer können die Wirkung des Serums nicht ersetzen.

6. Die Versuche mit Serum zeigen, daß der Unnachweisbarkeit, dem „Verschwinden“ des Digitalisgiftes, das den Organismus passiert hat, keine Zerstörung oder Fixation an Zellen zugrunde liegen muß.

Über die Kohlensäurebildung im überlebenden, blutdurchströmten Muskel.

Von

Herbert Elias (Wien).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 21. Juli 1913.)

Die in der Arbeit von Dr. Freise (s. Bd. 54, S. 474) ausführlich beschriebene Methode zur Bestimmung der Kohlensäurebildung in der künstlich mit Blut durchströmten Leber läßt sich, wie leicht einzusehen, auch zur Bestimmung der Atmung anderer Organe verwenden.

Auf Vorschlag von Prof. Hofmeister sollte nun auf gleichem Wege die Kohlensäurebildung im ruhenden und arbeitenden Muskel untersucht werden, eine Aufgabe, die insofern dankbar schien, als die bisherigen nicht allzu zahlreichen Bemühungen, dem Gaswechsel des Muskels näher zu treten, nicht zu abschließenden Ergebnissen geführt haben.

Von einschlägigen Arbeiten sind in erster Reihe jene der Ludwigschen Schule zu nennen, die sich systematisch dieses Gebietes annahm [Sczélkov[1]), C. Ludwig und Alexander Schmidt[2]), Minot[3]), Rubner[4]), v. Frey und Gruber[5]) und v. Frey[6])].

Den Abschluß fanden diese Untersuchungen, die sich über mehr als zwei Jahrzehnte (1862 bis 1885) erstreckten, durch

---

[1]) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissenschaften Wien **45**, 190, 1862.
[2]) Arbeiten aus d. physiol. Anstalt zu Leipzig, 3. Jahrg. 1868, **12**.
[3]) Arbeiten aus d. physiol. Anstalt zu Leipzig, 11. Jahrg. 1876, 1.
[4]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1885, 38.
[5]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1885, 518.
[6]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1885, 533.

die Standardarbeit von Max v. Frey, der zuverlässige quantitative Angaben für den Gaswechsel des Muskels in der Ruhe und während der Arbeit machen konnte.

Auf einem etwas anderen Wege gingen Chauveau und Kaufmann[1]) in Paris vor, die den Gasumsatz und den Zuckerverbrauch des M. masseter und M. levator labii superioris proprius durch Analysen von Blutproben aus Arterie und Vene und gleichzeitige Bestimmung der durchlaufenden Blutvolumina an dem lebenden Pferd bei Ruhe und bei Muskelarbeit berechneten, was Einhalten der physiologischen Bedingungen betrifft, wohl eines der schönsten Experimente überhaupt.

Am lebenden Tier hat auch Zuntz[2]) den Gaswechsel des Muskels studiert, indem er an großen Hunden durch Strammziehen eines um die Vena femoralis gelegten Seidenzügels von Zeit zu Zeit den Rückfluß des Blutes gegen das Herz hemmte und so aus einem Seitenästchen unter dem knapp vorher gemessenen Seitendruck Blutproben zur Gasanalyse unter Öl auffing. „Da demnach das Blut, das zur Analyse aufgefangen wurde, unter genau demselben Widerstand ausströmte, gegen den es vorher dem Herzen zufloß, wurde durch den Aderlaß der Blutstrom in den Muskel durchaus nicht verändert." Durch Berücksichtigung der aus der Vene ausfließenden Blutmengen ergibt sich für den 1. Versuch ein Absinken der CO_2-Produktion nach Nervendurchschneidung um ca. die Hälfte pro Minute, im 2. Versuch, bei dem zur Kontrolle das Blut aus dem zweiten intakten Bein analysiert wurde, eine Verminderung um $^1/_3$ ungefähr.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind im wesentlichen aus nachstehender Tabelle zu ersehen.

Sie gibt die Größe der Kohlendioxydabgabe pro Kilogramm Muskel und Minute an.

Die Zusammenstellung dieser Werte ergibt ein recht unbefriedigendes Bild. Selbst wenn man bloß die bei Normaltemperatur erhaltenen Zahlen miteinander vergleicht, erhält man Unterschiede, die Zweifel an ihrer Richtigkeit bzw. All-

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 108, 974, 1057, 1153.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1878, 141.

gemeingültigkeit erwecken müssen. So findet v. Frey am Hundemuskel im Mittel für den Ruhezustand 9,18 mg pro Kilogramm und Minute, Rubner bloß 1,97 mg, Chauveau und Kaufmann im Mittel 6,79 mg, wobei die Mittelzahlen überdies aus recht wenig stimmenden Einzelversuchen gewonnen sind.

Tabelle I.

Autor	Bezeichnung des Versuchs	Temperatur Grad	Zustand des Muskels	CO_2 pro kg u. Min. mg	Bemerkungen
Ludwig und Schmidt	2	18—20	Tätigkeit	0,935	Isolierter Biceps femoris u. Semitendinosus (Hund)
do.	2	18—20	Ermüdung	0,646	
do.	2	18—20	Ruhe	0,765	
do.	3	18—20	Ruhe	2,790	ebenso
do.	3	18—20	Tätigkeit	2,970	
do.	3	18—20	Ermüdung	2,670	
do.	4	18—20	Ruhe	3,930	"
do.	4	18—20	Tätigkeit	2,970	
do.	4	18—20	Ermüdung	3,930	
do.	4	18—20	Ruhe	3,330	
do.	4	18—20	Tätigkeit	2,870	
do.	4	18—20	Ermüdung	3,030	
Rubner	1	7,9	Ruhe	1,600	Hintere Extremitäten (Hund)
do.	2	12,2	"	1,680	ebenso
do.	3	26,2	"	1,260	
do.	4	33,8	"	1,660	
do.	5	38,8	"	1,970	
v. Frey	9. VII.	Zimmertemper.	Ruhe	5,480	Hintere Extremitäten (Hund)
do.	9. VII.		Tetanus	7,390	
do.	23. VII.		Ruhe	5,190	ebenso
do.	23. VII.		Tetanus	6,370	
do.	21. V.	Körpertemperatur	Ruhe	8,300	"
do.	21. V.		Tetanus	9,190	
do.	11. VI.		Ruhe	10,080	"
do.	11. VI.		Tetanus	12,780	
do.	26. VI.		Ruhe	9,170	"
do.	26. VI.		Tetanus	9,780	
Chauveau u. Kaufmann	1	Körpertemperatur	Ruhe	3,760	Lebende Pferdemuskeln (s. oben)
do.	1		Tätigkeit	124,600	
do.	2		Ruhe	11,470	ebenso
do.	2		Tätigkeit	355,900	
do.	3		Ruhe	5,140	"
do.	3		Tätigkeit	257,000	

Diese Unterschiede erklären sich zum großen Teil schon aus den Versuchsbedingungen:

Chauveau und Kaufmann arbeiteten am intakten Pferde, Rubner und v. Frey am künstlich mit verdünntem Hundeblut durchströmten Hinterleib des Hundes. Abgesehen davon spielen, wie ich aus eigener Erfahrung sagen kann, mannigfache, unbekannte Momente mit. Vor allem scheint der Ernährungszustand des Muskels in einer noch nicht anzugebenden Art die Kohlensäurebildung zu beeinflussen.

Auch in den nachstehend mitzuteilenden Versuchen ist es nicht gelungen, die Schwierigkeiten der Versuchsanordnung restlos zu bewältigen. Vielfach haben mühselige Versuche nur zur Aufdeckung neuer Fehlerquellen geführt, und gewisse Schwächen ließen sich überhaupt nicht beseitigen.

Trotzdem scheint eine Mitteilung der gelungenen Versuche berechtigt, einmal weil sie denn doch neues Material zur zahlenmäßigen Feststellung der Kohlensäureabgabe des Muskels liefern, sodann weil sie lehren, daß sich mit Hilfe dieser Anordnung direkt experimentelle Untersuchungen über die Verbrennung von dem Muskel zugeführten Stoffen ausführen lassen, über die später berichtet werden soll.

Versuchsanordnung.

In bezug auf die angewandte Methodik kann ich auf Freises Darstellung verweisen. Die Abweichungen betreffen minder wesentliche Punkte[1]). Es genügt hier auf das einzugehen, was sich in meinen Versuchen wegen der wesentlich anderen Natur des Objektes anders gestaltet hat.

Wie Freise auseinandergesetzt hat, läßt sich die im überlebenden Organe neugebildete Kohlensäure aus folgenden Werten berechnen:

1. aus der Menge der im Organe zu Beginn vorhandenen $CO_2 = Org_v$;

2. aus der darin zum Schluß verbleibenden $CO_2 = Org_n$;

3. aus der CO_2-Menge im durchgeleiteten Blut zu Beginn des Versuches $= Bl_v$;

4. aus der Kohlensäuremenge im durchgeleiteten Blut zum Schluß des Versuches $= Bl_n$;

[1]) So verwendete ich zur Kohlensäureabsorption anfangs Pettenkofersche Röhren an Stelle der später von Freise benutzten Absorptionsflaschen u. dgl.

5. aus der Kohlensäuremenge, die das Blut während der Versuchsdauer selbst bildet = Bl_b;

6. aus der Kohlensäuremenge, die vom Blut an den durchgeblasenen Sauerstoffstrom abgegeben wird = Ko_h;

7. aus der Kohlensäuremenge, die während des Versuches von der Oberfläche des Organs durch Diffusion abgegeben wird = Ko_p.

Falls nicht anderweitige Fehler durch Blutverlust, durch teilweise Thrombosierung usw. eintreten, ergibt sich für die in der Versuchszeit gebildete Kohlensäure der Ausdruck:

$$\text{Gesamt-}CO_2 = Org_n + Bl_n + Ko_h + Ko_p - (Org_v + Bl_v + Bl_b).$$

Von diesen Werten sind in meinen Versuchen der CO_2-Gehalt des Ausgangsblutes (Bl_v), des Endblutes (Bl_n) und die durch Atmung abgegebene $CO_2 = Ko_h$ bestimmt worden. Die in der Zwischenzeit bei der Versuchstemperatur im Blute selbst entstehende Kohlensäure wurde durch Kontrollversuche festgestellt. Die Menge der durch Diffusion verloren gegangenen Kohlensäure = Ko_p wurde vernachlässigt, weil dieser Verlust am Hintertier bei erhaltener Haut nicht als erheblich angesehen wurde. Ebenso wurde Org_v und Org_n vernachlässigt, in der Annahme, daß sich der CO_2-Gehalt des eigentlichen Gewebes während des Versuches nicht erheblich ändern dürfte, eine Annahme, die möglicherweise zu einem geringen in seiner Größe nicht genau zu beurteilenden Fehler führt.

Wie aus Freises Versuchen mit Beibringung von Kohlensäure gesättigtem Blut hervorgeht, verläuft die Kohlensäureabgabe in unserem Apparat bei weitem nicht parallel der Kohlensäurebildung. Stets bedarf es einer gewissen Zeit, bis das Kohlensäure-Plus im Arterialisator zur Abgabe gelangt. Es ist bei sehr starken Schwankungen über eine halbe Stunde nötig, ehe sich das ursprüngliche Niveau wieder einstellt. Ist die Kohlensäurebildung jedoch gleichmäßig, so zeigt auch die Kohlensäureabgabe einen gleichmäßigen Verlauf und kann, abgesehen von den ersten Viertelstunden, unbedenklich als Maß der Kohlensäurebildung dienen.

Die Notwendigkeit, mit großen Blutmengen zu arbeiten, schloß die Anwendung von Hundeblut für die große Zahl der

Versuche aus; ich arbeitete daher mit frischem Rinderblut.

Eine in der Versuchsanordnung begründete Fehlerquelle ist die ausnahmsweise beobachtete Anhäufung von Blut in den Muskeln. Durch Gewichtsbestimmung vor, während und nach der Durchblutung läßt sich die Menge des im Präparat zurückbleibenden Blutes bestimmen und mit der im Apparat zum Schluß verbleibenden Blutmenge zur Kontrolle in Rechnung stellen. Immerhin ergibt sich hierin ein gewisser Fehler, da die CO_2-Menge des Restblutes aus arterialisiertem, also kohlensäureärmeren Blut bestimmt wird, während das Blut im Gewebe wahrscheinlich kohlensäurereicher ist.

Endlich liegt meinen Versuchen die sicher unrichtige Annahme zugrunde, daß die Haut, das Unterhautbindegewebe, das Fett, die Knochen und das Rückenmark an der Kohlensäurebildung und Abgabe nicht teilnehmen. Während die durch Oberflächendiffusion bedingten und die früher speziell angeführten Fehlerquellen geeignet sind, die resultierenden Werte herunterzudrücken, muß die Vernachlässigung der Kohlensäurebildung in den nicht muskulären Gebilden des Präparates das Gegenteil bewirken. Inwieweit sich diese Fehlerquellen gegenseitig ausgleichen, läßt sich zurzeit nicht beurteilen.

In Betreff der operativen Technik sei folgendes bemerkt:

Nachdem sich in vielen Fällen das Kaninchen als ungeeignet erwiesen hatte[1]), wurde, wie es auch alle Vorgänger in diesem Gebiete getan haben, der Hund als Versuchstier gewählt und seine hinteren Extremitäten mit defibriniertem Rinderblute durchströmt.

Gleich der erste Versuch in der Art (Versuch 10) ergab eine gute, reichliche Durchblutung, und besonders bei kleinen Hunden von 6 bis 7 kg ließen sich, wie sich später herausstellte, die Versuchsfehler (Sickerblut und Anschoppung) besonders leicht auf ein Minimum herabdrücken.

Die zur Anfertigung des Muskelpräparates verwendete Technik war ungefähr dieselbe, die von Frey und Gruber vor mehr als 25 Jahren angegeben haben. Nur wurden statt des

[1]) Max Rubner berichtet schon 1885, daß mit Hundeblut durchblutete Kaninchenmuskeln rasch absterben.

Eisenringes und der Wirbelzange der Angabe von Embden und Gläßner[1]) entsprechend drei Massenligaturen mit starkem Bindfaden verwendet, die sich noch nötigenfalls nachträglich leicht durch Torsion eines eingeschobenen Peans beliebig fest zuziehen ließen. Derselbe wurde durch einen Schieber in seiner Lage festgehalten.

Bei Reizungsversuchen kam die eine Elektrode, ein in Ringersche Lösung getauchtes Filtrierpapier, in den Rückenmarkskanal zu liegen und wurde daselbst durch einen daraufgesetzten Korkpfropfen festgehalten. Die zweite Elektrode wurde mit der Achillessehne eines Beines in Verbindung gebracht. Die entstehenden Stromschleifen waren stark genug, auch das nicht direkt mit dem Induktorium verbundene Bein in kräftigen Strecktetanus zu versetzen.

Vor der Durchblutung des Tieres wurde stets der Apparat in Gang gebracht und Sauerstoff durchgeleitet, damit das eingefüllte Blut (2 l) in der folgenden halben Stunde sich mit den schädlichen Räumen im Apparat ins Gleichgewicht setzen konnte. Das in der Zwischenzeit fertiggestellte Präparat wurde dann ohne Flüssigkeitsabschluß in einen, durch einen Thermostaten auf gleichmäßige Temperatur (37°) gebrachten Wärmkasten gelegt, so daß diese Versuche den „warmen" Versuchen von Frey entsprechen. Erst nachdem das Hintertier bei gleichzeitiger passiver Bewegung und Massage durch das in die Aorta nachdrängende Rinderblut von dem zurückgebliebenen Hundeblut freigespült war, wurde auch die Kanüle der Vena cava angeschlossen. Das früher frei abgelaufene Blut, das zum Teil sofort gerann, mußte von der Gesamtmenge des in den Apparat eingefüllten Blutes in Abzug gebracht werden oder die Gesamtmenge wurde durch Zusatz der gleichen Menge frischen Rinderblutes neu ergänzt.

Da bei gleichmäßiger Kohlensäurebildung die Kohlensäureabgabe sich erst nach einer halben Stunde auf ein konstantes Niveau einstellt, wurde, wo es notwendig war, einen Schluß auf die Kohlensäureproduktion in der Ruhe zu ziehen, dazu erst die dritte Viertelstunde der Blutdurchleitung verwendet, die sich in nicht weiter mitgeteilten Versuchen regelmäßig als

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 321 u. 322, 1901.

brauchbar erwiesen hatte. Die Durchblutungszeit wurde nie über zwei Stunden ausgedehnt, ja bei den Arbeitsversuchen auf eine noch kürzere Zeit beschränkt, da nach verhältnismäßig kurzer Zeit der Reizaffekt sank, eine Erfahrung, die v. Frey bei seinen Warmversuchen auch machen mußte.

Bei den Ruheversuchen, in denen man aus einer größeren Zahl von Viertelstundenwerten einen Durchschnittswert zu finden suchte, konnte man sich damit begnügen, zu Beginn und am Ende des Versuches je 2mal 100 ccm Blut aus dem arteriellen Teil des Apparates zu entnehmen und daraus an dem von Hanssen[1]) beschriebenen Schüttelapparat den Kohlensäuregehalt vor und nach dem Versuch zu bestimmen.

Bei den Arbeitsversuchen aber, wo man sich für den absoluten Kohlensäurewert in jeder Viertelstunde interessieren mußte, wurde natürlich auch nach jeder Viertelstunde eine Blutprobe zur Analyse entnommen. Jedesmal mußte die im Apparat befindliche Blutmenge aus der anfänglich eingefüllten, durch Abzug der in früheren Viertelstunden entnommenen Blutquantitäten, durch Abzug des viertelstündig gemessenen Sickerblutes, sowie durch Abzug der durch viertelstündige Wägung des Hintertieres bestimmte Gewichtszunahme desselben, die ja nur als Anschoppung des Präparates anzusehen war, eruiert werden. Denn der Berechnung der Differenzen in der Arterialisation des Blutes vor und nach einer Versuchsperiode kann auch nur die arterialisierte Blutmenge zugrunde gelegt werden. Freilich ist sowohl das Sickerblut, sowie das Blut, das in dem Tier die Gewichtszunahme bedingt — soweit der Grund dafür nicht in der Überfüllung der tonuslosen, erweiterten Gefäße, sondern in Hämatomen zu suchen ist — als venös anzusehen und bedeutet für die Durchblutung einen toten, mit CO_2 angereicherten Raum, so zwar, daß die auf oben angedeutete Art erhaltenen Werte etwas zu niedrig sind. Doch gelingt es bei einer reichlichen Durchblutung, die für diese Viertelstundenversuche ohnehin eine conditio sine qua non ist, auch ohne besondere Drucksteigerung auszukommen; dann ist bei genauem Arbeiten das Sickerblut überhaupt zu vermeiden, und auch die geringere Gewichtszunahme des Hintertieres ist da nur auf die Über-

[1]) Diese Zeitschr. 22, 433, 1909.

füllung der Gefäße zurückzuführen, nicht auf Ödeme oder gar Hämatome, wie man sich leicht nach dem Versuche durch Sektion überzeugen kann.

Ein Fehler, der das Resultat in umgekehrter Richtung beeinflußt, liegt in der Vernachlässigung des dem Blut eigenen Stoffwechsels, die sich aber bisher alle Untersucher gestatteten. Da aber in den vorliegenden Versuchen mit durchschnittlich 2 l Blut gearbeitet wurde, also mit einer Blutmenge, die zirka doppelt so groß war als die von Frey und Gruber verwendete (900 ccm Blut + 150 ccm NaCl-Lösung), so wurde in einem eigenen blinden Versuch (Versuch 27) die Kohlensäureproduktion im Blute bestimmt.

Tabelle II.

Versuch 27 vom 25. VII. 1911.

Kontrolle zur Bestimmung des dem Blute eigenen Gaswechsels. 10^{00} statt des Organs ein langer Schlauch mit Klemme zur Regulierung des Blutstromes angeschlossen.

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Blutteperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2 ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
10^{45}—11^{00}	70	38	3000	voller Strahl	10^{45} als 1. Blutprobe 2 mal 100 ccm entnommen, 100 ccm = 88,2 mg CO_2, verbleiben 2500 ccm	87
11^{00}—11^{15}	70	38	3100	do.	Friktionsriemen d. Arterialisators schleift einen Augenblick an der Scheibe	94
11^{15}—11^{30}	70	38—39	3050	dickerer Strahl	Durch geringe Lüftung d. Klemme	106
11^{30}—11^{45}	70	39—38,5	3100	voller Strahl wie 11^{15}		110
11^{45}—12^{00}	70	38,5	3100	do.		106
12^{00}—12^{15}	70	38,5	2800	do.	12^{15} als 2. Blutprobe 2 mal 100 ccm entnommen, 100 ccm = 78,0 mg CO_2	93

$Bl_v = 2205$ mg, $Bl_a = 1950$ mg, $Ko_h = 596$ mg, $Bl_a + Ko_h - Bl_v = 341$ mg.
Kohlensäure gebildet pro 1 l Blut und Minute = 1,51 mg CO_2.

Freise hat in ähnlichen Versuchen mit Rinderblut folgende Werte gefunden: 1,326, 2,050 1,324 mg. Es ergibt sich hieraus im Mittel für 1 l Rinderblut die Bildung von 1,55 mg CO_2 pro Minute oder 23,3 mg Kohlensäure pro Viertelstunde. Der Berechnung der anzuführenden Versuche wurde dieser Wert zugrunde gelegt und bei der Menge der gebildeten CO_2 in Abzug gebracht.

Ferner ist wohl nicht ganz zulässig, aus dem Hintertier durch Berechnung die Muskelmenge zu erschließen, wie es

v. Frey getan hat. Nur bei einem der hier angeführten Versuche liegt ein so erschlossener Muskelwert der Berechnung zugrunde. Sonst wurden stets nach dem Versuche und nach Abtrennung der abgebundenen Teile die Muskeln des Tieres genau präpariert, gewogen und auf dieses Gewicht die Kohlensäuremenge berechnet. Wir konnten uns nämlich überzeugen, daß, wie zu erwarten stand, sowohl bei verschiedenrassigen als auch bei verschieden ernährten Hunden der prozentuelle Wert des Muskelgewichtes in nicht geringen Grenzen schwankt.

Muskelgehalt des Hintertieres in Prozenten ausgedrückt:

Versuch	12	F.	13	14	15	17	18	19	26
	59,9	50,3	58,7	69,3	54,9	60,6	55,0	60,5	34,1

$$\text{Durchschnittswert} = \frac{503{,}3}{9} = 55{,}9\,\%.$$

Ich lasse nunmehr die Versuche folgen, bei denen eine Reizung der Muskeln nicht vorgenommen wurde.

Ruheversuche.

Tabelle IV.

Versuch 12 vom 26. I. 1911.

2 l defibriniertes Rinderblut.

Hintertier 2560 g. 9^{50} arterielle, 9^{57} venöse Kanüle angeschlossen.

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Bluttemperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2-ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
10^{07}—10^{22}	60—90	36—38		anfangs schwach., dann voller Strahl	10^{07} Blutprobe entnommen, 100 ccm = 79,2 mg CO_2, im Apparat verbleiben 1900 ccm	200
10^{22}—10^{37}	90—105	38—39	3050	voller Strahl		265
10^{37}—10^{52}	105—110	39	3200	do.		288
10^{52}—11^{07}	110—120	39—38	2900	do.		290
11^{07}—11^{22}	120—150	38	6600	do.		289
11^{22}—11^{37}	150—170	38—36		do.	11^{20} 2 Minuten Pause: Motor steht	286
11^{37}—11^{52}	170—180	36—35	3000	gering		248
11^{52}—12^{07}	180—190	35		do.	12^{07} 2. Blutprobe entnommen, 100 ccm = 60,6 mg CO_2	243

Muskeln präpariert: 1510 g = 59,9 %.

$Bl_v = 1505$ mg CO_2, $Bl_a = 1151$ mg CO_2, $Bl_b = 353$ mg CO_2,

$Ko_b = 2109$ mg CO_2;

$Ko_b + Bl_a - Bl_v - Bl_b = 1402$ mg CO_2.

Berechnet auf 1 kg Muskel pro Minute = 7,74 mg CO_2.

Tabelle V.

Versuch 13 vom 2. II. 1911.

2 l defibriniertes Rinderblut.

Hintertier 2916 g. 9^{55} an den Apparat angeschlossen.

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Bluttemperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2-ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
10^{15}—10^{30}	60	41	3500	voller Strahl	9^{14} 1. Blutprobe (100 ccm) entnommen, 100 ccm = 87,6 mg CO_2, verbleiben 1900 ccm im Apparat	342
10^{30}—10^{45}	60	41—40	3250	do.		328
10^{45}—10^{48}	60	40	4250	do.	Nicht aufgefangen, interpoliert	66
10^{48}—11^{03}	60	40—38		do.		325
11^{03}—11^{18}	60—80	38	3000	erst voller, dann schwäch. Strahl	Gegen Ende Sickerblut	240
11^{18}—11^{33}	80—90	38	3750	zu Beginn schwacher Strahl, nach besserer Muskelabbindung voller Strahl	Noch viel Sickerblut, im ganzen ca. 100 ccm, verbleiben im Apparat 1800 ccm, darauf bessere Abklemmung der Muskeln, das Sickern sistiert	337
11^{33}—11^{48}	90—120	38—39	3250	voller Strahl		304
11^{48}—12^{03}	120	39—40	4250	do.	Blut etwas hämolytisch, darum Versuch abgebroch., 1600 ccm im Apparat, 2. Blutprobe 100 ccm entnommen, 100 ccm = 54,0 mg CO_2	324 34 im Restkolben

Hintertier nach dem Versuch 3190 g (Suffusionen). Muskeln präpariert: 1710 g = 58,7 %.

Bl_v (auf 1600 ccm berechnet) = 1402 mg CO_2, Bl_a (ebenso berechnet) = 864 mg CO_2, Bl_b (4 Viertelstunden mit 1900, 3 Viertelstunden mit 1600 ccm berechnet) = 289 mg CO_2, Ko_h = 2300 mg CO_2;

$$Ko_h + Bl_a - Bl_v - Bl_b = 1473 \text{ mg } CO_2.$$

Berechnet auf 1 kg Muskel pro Minute = 7,98 mg CO_2.

Tabelle VI.

Versuch 15 vom 17. V. 1911.

2 l defibriniertes Rinderblut.

Mops 7155 g (tot gewogen). 10^{15} entblutet. Hintertier 2505 g. 10^{25} an den Apparat angeschlossen.

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Bluttemperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2-ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
11^{00}—11^{15}	100—115	38	3300	dünner Strahl	Als 1. Blutprobe 100 ccm entnommen, 100 ccm = 74,4 mg CO_2, verbleiben 1900 ccm	648
11^{15}—11^{30}	115—130	38	3100	erst dünner, dann voller Strahl		548

Tabelle VI (Fortsetzung).

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Bluttemperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2-ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
11^{30}—11^{45}	130—140	38	3150	voller Strahl		596
11^{45}—12^{00}	140—160	38—38,5	3150	do.		538
12^{00}—12^{15}	160—170	38,5	3300	do.	Als 2. Blutprobe 100 ccm entnommen, 100 ccm = 67,2 mg CO_2	472

Muskeln präpapiert: 1375 g = 54,9 %.

Bl_v = 1414 mg CO_2; Bl_a = 1277 mg CO_2, Bl_b = 220,9 mg CO_2, Ko_h = 2802 mg CO_2;

$Ko_h + Bl_a - Bl_v - Bl_b$ = 2444 mg CO_2.

Berechnet auf 1 kg Muskel pro Minute = **23,70** mg CO_2.

Tabelle VII.

Versuch 17 vom 31. V. 1911.

2 l defibriniertes Rinderblut.

9^{45} Hund (7500 g) entblutet, Hintertier 2260 g. 10^{05} an den Apparat angeschlossen.

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Bluttemperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2-ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
10^{15}—10^{30}	45—70	37,5—38,0	3000	voller Strahl	10^{15} 1. Blutprobe 100 ccm entnommen = 90 mg CO_2, verbleiben im Apparat 1900 ccm	269
10^{30}—10^{45}	70—110	38—39	3050	do.		270
10^{45}—11^{00}	110—130	39	3000	schwacher Strahl		242
11^{00}—11^{15}	130—160	39	2950	do.		238
11^{15}—11^{30}	160—170	39	3050	do.		222
11^{30}—11^{33}	170	39	—	do.	CO_2 nicht aufgefangen, interpoliert	44
11^{33}—11^{40}	170	39	—	do.	11^{40} 2. Blutprobe 100 ccm entnommen, 100 ccm = 47,4 mg CO_2, 700 ccm im Apparat verblieben	101

Muskeln präpariert: 1430 g = 60,6 %.

Bl_v (auf 700 ccm berechnet) = 630 mg CO_2, Bl_a (ebenso berechnet) = 331,8 mg CO_2, Bl_b (auf 1300 ccm berechnet) = 171,4 mg CO_2, Ko_h = 1386 mg CO_2;

$Ko_h + Bl_a - Bl_v - Bl_b$ = 916,5 mg CO_2.

Berechnet auf 1 kg Muskel pro Minute = **7,54** mg CO_2.

Tabelle VIII.

Versuch 18 vom 9. VI. 1911.

2 l defibriniertes Rinderblut.

9^{10} Hund (4950 g) entblutet, Hintertier 1800 g. 9^{40} an den Apparat angeschlossen.

Zeit	Durchblutungsdruck mm Hg	Bluttemperatur °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Bemerkungen	Durch O_2-ausgeschwemmte CO_2-Mengen mg
9^{57}—10^{12}	60—80	39	3050	voller Strahl	9^{57} als 1. Blutprobe 100 ccm entnommen = 72 mg CO_2, verbleiben 1900 ccm	170,0
10^{12}—10^{27}	80—90	39	3150	do.	Ein Schlauch schließt schlecht, CO_2 geht verloren, interpoliert [1])	166,0
10^{27}—10^{42}	90—130	39	3070	voller Strahl, geg. Schluß schlechter		160,5
10^{42}—10^{57}	130—120	39—39	2980	voller Strahl		168,0
10^{57}—11^{02}	—	—	—		11^{02} als 2. Blutprobe 100 ccm entnommen = 61 mg CO_2	63,4

Muskeln präpariert: 990 g = 55,0%.

$Bl_v = 1368$ mg CO_2, $Bl_a = 1159$ mg CO_2, $Bl_b = 191{,}4$ mg CO_2,

$Ko_h = 728$ mg CO_2;

$Ko_h + Bl_a - Bl_v - Bl_b = 328$ mg CO_2.

Berechnet auf 1 kg Muskel pro Minute = **5,10** mg Co_2.

Außerdem habe ich in 3 Versuchen, die behufs Bestimmung der Tetanusatmung angestellt waren, zunächst den Ruhewert der Kohlensäureabgabe festgestellt. Es ergeben sich dabei in den 3 Viertelstunden nach Einschaltung der Leber folgende Werte:

Versuch	21	9,74 mg
„	24	2,26 „
„	26 (s. unten) . . .	5,76 „

Die sämtlichen ermittelten Ruhewerte (7,44, 7,98, 25,70, 7,54, 5,10, 9,74, 2,26, 5,76) ergeben als Mittel 8,73 mg pro Kilogramm Muskel und Minute. Vernachlässigt man den ganz aus der Reihe fallenden hohen Wert von Versuch 15, bei dem die Muskeln anscheinend unter einer anhaltenden Erregung unbekannter Ursache standen, sowie den auffallend niedrigen Wert des Versuchs 24, wo sich überhaupt der Gaswechsel als ausnehmend torpid erwies, so berechnet sich ein mittlerer Ruhewert von 7,31 mg. Aus den oben angeführten Versuchen

[1]) Die Interpolation ist wohl trotz der Größe des eingesetzten Wertes im Hinblick auf die Gleichmäßigkeit des Verlaufs gestattet.

Tabelle IX.

Versuch 26 am 20. VII. 1911. 2420 ccm defibriniertes Rinderblut.

9^{30} Hund entblutet, Hintertier 1660 g. Präparierte Muskeln 565 g. 9^{45} an den Apparat angeschlossen.

Zeit	Muskelzustand	Druck mm Hg	Temp. °C	O_2-Zufuhr ccm	Blutstrom	Blut im Apparat ccm	Blut-CO_2 zu Beginn = Bl_v in 100 ccm mg	Blut-CO_2 zu Beginn = Bl_v im ganzen mg	Blut-CO_2 zum Schluß = Bl_a in 100 ccm mg	Blut-CO_2 zum Schluß = Bl_a im ganzen mg	Im Blut gebildete CO_2 Bl_b mg	Im Arterialisat. abgeg. $CO_2 = Ko_h$ mg	$Ko_h + Bl_a - (Bl_v + Bl_b)$ mg	CO_2 abgeg. pro Kilogr. u. Minute mg
10^{15}—10^{23}	Ruhe	80—90	37	1100	voller Strahl	2320	133,3	3093	133,3	3093	25,20	48	22,8	5,76
10^{23}—10^{35}	10 Min. (Tetanus)	90	37	3050	do.	2200	133,3	2932,6	135,0	2970	44,33	301	294,1	40,04
10^{35}—10^{50}	Ruhe	90	37—37,5	3100	do.	2100	135,0	2835	130	2730	48,83	333,5	179,7	21,20
10^{50}—11^{05}	„	90	37,5	3150	do.	1960					45,60	314		
11^{05}—11^{20}	„	90	37,5	3150	do.	1720	130	1950	90	1350	40,05	316	230,8	9,10
11^{20}—11^{35}	„	90	37,5	2900	do.	1500					29,55	316		

v. Freys ergibt er sich zu 9,18, aus jenen von Chauveau und Kaufmann zu 6,79 mg pro Kilogramm und Minute; eine Übereinstimmung, die im Hinblick auf die unvermeidlichen physiologischen Schwankungen als sehr befriedigend bezeichnet werden kann.

Man darf danach die Kohlensäureproduktion des ruhenden Säugetiermuskels mit rund 7 mg veranschlagen. Da ein Erwachsener nüchtern und bei absoluter Muskelruhe pro Kilogramm Gewicht in 1 Minute rund 3 ccm = 6 mg Kohlensäure ausatmet[1]), so erscheint die Gesamtkohlensäurebildung des Erwachsenen etwa so groß, als ob der Organismus aus ruhender Muskelsubstanz bestünde. Dies könnte befremden, wenn man bedenkt, daß ein nicht geringer Teil der Organe, Knochen, Fettgewebe, Haut und andere offenbar einen

[1]) Einer Tabelle von Magnus-Levy entnommen. v. Noorden, Handbuch des Stoffwechsels 1, S. 279.

geringeren Stoffwechsel besitzen als die ruhenden Muskel. Dem gegenüber fällt aber ins Gewicht, 1. daß einzelne Organe eine viel höhere Kohlensäurebildung aufweisen, z. B. tätige Drüsen, wie eben erst von Freise für die Leber nachgewiesen ist, 2. daß auch im ruhenden Organismus muskuläre Organe, Herz, Atemmuskel, die glatten Muskeln des Darms usw. dauernd ein nicht geringes Maß von Arbeit verrichten.

Tetanusversuche.

Ich habe in 3 Versuchen die Erhöhung der Kohlensäurebildung durch Muskeltätigkeit zu ermitteln versucht. In allen war eine solche Erhöhung nachweisbar. Zur quantitativen Beurteilung eignet sich jedoch nur der in beistehender Tabelle mitgeteilte Versuch 26, denn nur hier war der Tetanus intensiv und die ihm folgende Nachperiode lang genug. Wie schon erwähnt, geht Kohlensäurebildung und Abgabe der Kohlensäure an den im Arterialisator vorbeiströmenden Sauerstoff nicht parallel. Es bedarf vielmehr längerer Zeit, damit das im Blut auftretende Kohlensäure-Plus zur Abgabe gelangt. Dieser Bedingung ist im vorliegenden Versuche genügt (Tab. IX).

Aus dem eben angeführten Grunde kann die während der Reizungsperiode abgegebene Kohlensäure nicht allein als Maßstab der während des Tetanus gebildeten dienen, sondern nur das gesamte Plus an Kohlensäure einschließlich der auf die Reizung folgenden Ruheperioden.

Legt man die gefundene Zahl 3,26 mg CO_2 pro 565 g (= 5,76 pro 1000 g) und Minute als Ruhewert zugrunde, so ergibt sich als die durch den 10 Minuten dauernden Tetanus bewirkte Kohlensäureproduktion

Zeit	CO_2 mg	Anzunehmende CO_2-Bildung im ruhenden Muskel	CO_2-Plus mg
10^{22}—10^{35}	294,1	42,4	251,7
10^{35}—10^{50}	179,7	48,9	130,8
10^{50}—11^{35}	230,8	146,7	84,1
			Summa 466,6

d. h. 565 g tetanisierter Muskel haben in 10 Minuten 466,6 mg CO_2, also pro Minute 46,66 mg mehr gebildet als in der Ruhe.

Während dieser 10 Minuten betrug somit die CO_2-Bildung pro Minute 3,26 + 46,66 mg = 49,92 mg oder auf

1000 g Muskelsubstanz berechnet 88,4 mg, d. h. das 15fache des Ruhewertes.

Dieser Wert ist möglicherweise noch zu niedrig, da es nicht sicher ist, ob in der auf den Tetanus folgenden Stunde das ganze Kohlensäure-Plus zur Abgabe gelangt ist. Jedenfalls nähert sich diese Zahl auffallend den von Chauveau und Kaufmann am lebenden Tier ermittelten Werten. Zugleich sieht man, daß die CO_2-Bildung im arbeitenden Muskel derselben Größenordnung angehört wie jene der tätigen Drüsen (70 bis 100 mg pro Kilogramm und Minute und höher; vergleiche die voranstehende Untersuchung von Freise).

Trotz dieser Übereinstimmung dürfte es sich nicht empfehlen, auf die absoluten Zahlen allzu großes Gewicht zu legen. Hier ist eine Vervollständigung durch weitere Versuche, namentlich Arbeitsversuche, sehr erwünscht. Immerhin ist jetzt schon ersichtlich, daß es möglich sein wird, der Frage der Kohlensäurebildung im Warmblütermuskel in ähnlicher Weise durch Zufuhr von präsumptiven Kohlensäurebildnern näher zu treten, wie dies unter günstigeren Verhältnissen beim Froschmuskel durch Thunberg[1]) geschehen ist.

Zusammenfassung.

1. Der künstlich mit Blut durchströmte Muskel bildet in der Ruhe rund 7 mg CO_2 pro Kilogramm und Minute.

2. Tetanisierung führt zu einer erheblich (bis aufs 15fache) erhöhten CO_2-Bildung.

---

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. **22**, 406, 430, 1909; **23**, 154; **24**, 23 u. ff. 1910; **25**, 37, 1911.

Beiträge zur Frage der lipoiden Organhämolysine und ihrer Beeinflussung durch Traubenzuckerfütterung.

Von

Arno Kirsche.

(Aus der Kgl. Medizinischen Universitäts-Poliklinik zu Halle.)

(Eingegangen am 29. Juli 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Unter den Substanzen, die imstande sind, rote Blutkörperchen aufzulösen, spielen die Lipoide eine besondere Rolle. Wenn auch die eigenartige Wirkungsweise dieser Stoffe im Organismus bisher nur zum Teil geklärt ist, so haben sie doch in den letzten Jahren eine außerordentliche Bedeutung für die gesamte Biochemie erlangt.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß sie die Träger einer ganzen Reihe von Lebenserscheinungen der Zelle sind und Wirkungen entfalten, die bisher zum Teil ausschließlich den Eiweißkörpern zugeschrieben wurden. Nach den Untersuchungen von Overton bildet den Abschluß der Zelle gegen die Umgebung eine aus Lipoidstoffen bestehende semipermeable Membran, deren Vorhandensein biologisch sichergestellt ist, wenn sie sich auch histologisch nicht nachweisen läßt. Diese Membran regelt den gesamten Stoffwechsel der Zelle; alle Substanzen, die in die Zelle hineingelangen oder sie verlassen, sind von ihr abhängig. Doch nicht nur in dieser Grenzschicht, auch intracellulär kommen Lipoidstoffe vor, die für die Funktionen der Zelle von ebenso vitaler Bedeutung sind, wie jene.

Auch in der Pathologie haben die Lipoidsubstanzen in letzter Zeit größeres Interesse und größere Bedeutung erlangt. Es scheint, daß sie unter mancherlei Bedingungen als Gifte im Körper auftreten können. Am bekanntesten und am meisten studiert ist ihre lytische Wirkung, die sich auf fast alle Zellen, insbesondere auf die roten Blutkörperchen erstreckt. Eine Anzahl von Forschern spricht deshalb den Lipoidstoffen eine große Bedeutung für die Erklärung mancher anämischer Zustände zu, zumal auch experimentelle Untersuchungen dafür Anhaltspunkte geliefert haben. Bekannt sind die Versuche von Faust und Tallquist[1]),

[1]) Faust und Tallquist, Über die Ursachen der Botriocephalusanämie. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57, Heft 5 u. 6.

die in der Leibessubstanz des Botriocephalus latus mittels Extraktion mit Alkohol und Äther einen blutkörperzerstörenden Stoff gefunden haben, der seiner chemischen Konstitution nach einen Cholesterinester der Ölsäure darstellt. Es spricht vieles dafür, daß diese Substanz bei der Bandwurmanämie als hämotoxisches Prinzip eine wichtige Rolle spielt, zumal es Tallquist gelungen ist, durch Verfütterung oder Injektion von Ölsäure bei Tieren das klinische Bild der Anämie zu erzeugen. Unter diesen Umständen war es verständlich, daß auch die Befunde von lipoiden Hämolysinen in normalen und pathologisch veränderten Organen großes Interesse erregten. So fanden Berger und Tsuchyia[1]) in der Darmschleimhaut perniziös Anämischer stark hämolytisch wirkende Lipoidsubstanzen. Die Ansicht, daß die perniziöse Anämie auf ein vom Magendarmkanal aus wirkendes Gift zurückzuführen sei, könnte damit eine neue Stütze erhalten. Jedoch haben in allerletzter Zeit Ewald und Friedberger[2]) den Befund nicht bestätigen können. Bemerkenswert ist auch der Befund von ebenfalls aus Ölsäure bestehenden Hämolysinen in der Placenta von normalen und eklamptischen Frauen (Mohr und Freund[3]) Der Gedanke liegt nahe, daß gewisse anämische Zustände in der Schwangerschaft auf einen vermehrten Übergang von derartigen Giften ins Blut zurückzuführen sind. Besonders reichlich findet man die hämolytischen Substanzen bei der Autolyse von Organen und in Organen, die bei Vergiftungen und anderen klinischen Zuständen der Verfettung anheimgefallen sind (z. B. Vergiftung mit P, perniziöse Anämie). Die Organverfettungen, die eine Begleiterscheinung verschiedener Formen der Anämie sind, erscheinen so in einem anderen Lichte als bisher. Früher nahm man an, daß diese Verfettungen die Folgen mangelhafter Oxydation seien, bedingt durch den infolge der Verarmung an Hämoglobin vorhandenen Sauerstoffmangel. Von einem wirklichen Mangel an Sauerstoff und Hemmung der Oxydation kann aber in allen in Betracht kommenden Fällen nicht die Rede sein. Es muß deshalb die Verfettung eine andere Ursache haben.

In einer späteren Periode wurde dann von Rosenfeld eine andere Anschauung über die Organverfettungen begründet. Durch zahlreiche, in verschiedener Weise variierte Versuche glaubt dieser Autor den Nachweis erbracht zu haben, daß es eine Degenerationsverfettung überhaupt nicht gibt. Alles Fett, das in den Organen unter pathologischen Verhältnissen auftritt, ist aus den Fettdepots des Körpers herstammendes Infiltrationsfett. Doch hat diese Rosenfeldsche Hypothese in der letzten Zeit immer mehr an Boden verloren. Seitdem man die Wichtigkeit der in der Zelle vorhandenen Lipoidsubstanzen kennen lernte, hat auch der Begriff der fettigen Degeneration eine Wandlung erfahren. Vor nicht allzulanger Zeit verstand man hierunter eine Entstehung von Fett

[1]) Berger und Tsuchyia, Arch. f. klin. Med. **96**, 252, 1911.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 27 u. 30.

[3]) Mohr und Freund, Zur Pathogenese der Eklampsie. Berl. klin. Wochenschr. **1908**, Nr. 40.

aus Eiweiß. Die Möglichkeit und das Vorkommen einer solchen im Organismus ist aber bisher mit Sicherheit nicht erwiesen. Daher ist Rosenfeld beizustimmen, wenn er eine Fettdegeneration in diesem Sinne als unwahrscheinlich ablehnt. Andererseits geht dieser Autor aber entschieden zu weit, wenn er meint, man könne alle überhaupt vorkommenden pathologischen Verfettungen durch Infiltration aus den Fettdepots des Körpers erklären. Daß eine Degenerationsverfettung tatsächlich vorkommt, wird neuerdings fast allgemein angenommen (F. Kraus, Aschoff usw.). Nur entsteht das dabei auftretende Fett eben nicht aus dem Eiweiß, sondern aus den Lipoiden der Zelle, die durch das einwirkende lipoidlösliche Gift in Freiheit gesetzt werden. Speziell für die Organverfettung bei der perniziösen Anämie nimmt Mohr[1]) an, daß die Verfettung nicht die Folge der Anämie, sondern möglicherweise ihre Ursache, jedenfalls ihr koordiniert sei, indem die hämolytischen Organlipoide ins Blut gelangen und dort die Erythrocyten zerstören. Auch bei anderen mit Verfettungen und anämischen Zuständen einhergehenden Krankheiten ist dieser Kausalnexus nicht a limine abzuweisen. Bemerkenswerterweise sieht man den Vorgang sogar bei der Wirkung der chemischen Blutgifte, z. B. beim Toluylendiamin. Wie Joannovicz und Pick[2]) gezeigt haben, macht dasselbe, wie auch viele andere Blutgifte, eine hochgradige Degeneration der Leber und erst sekundär auf dem Wege über die Organverfettung werden die Erscheinungen der Anämie hervorgerufen. Mohr hat nun die Ansicht vertreten, daß die Organverfettung kein einheitlicher Prozeß ist, sondern sich aus 2 Vorgängen zusammensetzt: aus der Fettmetamorphose infolge der Dekomposition der Organzellen und aus der Fettinfiltration. Nur die aus den Organzellen freiwerdenden Lipoide sind imstande, rote Blutkörperchen zu zerstören, während dem aus den Depots herstammenden Transportfett diese Fähigkeit nicht zukommt. Diese Ansicht fand eine Bestätigung durch die Versuche Maidorns[3]), der besonders die durch zwei Blutgifte — das Toluylendiamin und den Phosphor — erzeugten Leberverfettungen auf ihre hämolytische Fähigkeit in vitro untersuchte. Er kommt ebenfalls zu dem Schlusse, daß nur das „Degenerationsfett" hämolytisch wirkt, das Infiltrationsfett dagegen gar nicht oder doch nur in dem Grade, als ihm freie, ungesättigte Fettsäuren beigemengt sind.

In Fortsetzung der Maidornschen Versuche stellte ich mir die Aufgabe, auch eine Reihe anderer durch verschiedenartige Momente erzeugte Leberverfettungen von diesem Gesichtspunkte aus zu prüfen und hinsichtlich ihres biologischen

[1]) Mohr, Zur Biologie und Chemie der Organverfettung. Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 1910 und Oppenheimers Handb. d. Biochem. 4.

[2]) Joannovicz und Pick, Beitrag zur Kenntnis der Toluylendiaminvergiftung. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 6, 185ff.

[3]) Maidorn, Zur Chemie der Blutgiftanämien. Diese Zeitschr. 1912.

Verhaltens, i. e. ihrer hämolytischen Wirksamkeit, miteinander zu vergleichen. Gleichzeitig wurden Versuche angestellt, die den Einfluß der Traubenzuckerfütterung auf die Verfettung zeigen sollten. Maßgebend war dabei der Gedanke, daß möglicherweise auf diese Weise Infiltrations- und Degenerationsfette unterschieden werden konnten. Als Paradigmata wurden Leberverfettungen gewählt, die erzielt waren:

1. durch Hungern,
2. „ Phlorizin,
3. „ acute Toluylendiaminvergiftung,
4. „ chronische „
5. „ Überhitzung,
6. „ postmortale Autolyse.

Für jeden Versuch wurden zwei möglichst gleichgroße Tiere (Kaninchen) verwendet und aus den beiden Resultaten jeweils das Mittel gezogen. Wichtig ist, daß auch die überhitzten, sowie die mit Phlorizin und Toluylendiamin behandelten Tiere während der ganzen Dauer des Experimentes ohne Nahrung blieben. Gleichzeitig wurden immer zwei Paralleltiere auf dieselbe Weise behandelt, daneben aber mit Traubenzucker gefüttert.

Als Extraktionsmethode benutzte ich die von Joannovicz und Pick im Jahre 1909 beschriebene, nach der auch Maidorn arbeitete: Kochen mit Alkohol, Extraktion mit Äther im Soxhlet, Fällung der Phosphatide und einiger anderer störender Substanzen durch Aceton, Aufnahme des zur Trockne eingeengten ätheracetonlöslichen Rückstandes in Methylalkohol. Die methylalkohollösliche Fraktion besteht aus einem Gemenge verschiedenartiger Lipoide und enthält nach den Untersuchungen von Joannovicz und Pick die Hauptmasse der hämolytisch wirksamen Fettsubstanzen. Der Methylalkohol eignet sich ganz besonders gut für diese Versuche, weil er selbst im Gegensatz zum Äthylalkohol keine oder nur geringe blutkörperchenauflösende Wirkungen entfaltet. Es ergibt sich also hieraus der große Vorteil, daß man die Extrakte in Lösung, statt — wie es bei den älteren Methoden, z. B. der Aufschwemmung in Kochsalzlösung, der Fall war — in Emulsion auf ihre hämolytische Fähigkeit prüfen kann. Ob es sich allerdings hierbei um echte Lösungen handelt, erscheint mir zweifelhaft. Einige Extrakte blieben bei der Aufnahme in wenig Methylalkohol zunächst trübe und undurchsichtig, und erst bei allmählichem Zugießen von weiteren Quantitäten Methylalkohol hellten sie sich ganz plötzlich auf. Am ausgeprägtesten zeigten dieses Verhalten diejenigen Extrakte, die, wie sich später herausstellte, sehr stark hämolytisch wirkten. Ob man hiernach zu dem Schlusse berechtigt ist, daß der Methylalkohol für freie Fettsäuren ein geringeres Lösungsvermögen als für andere Fette besitzt, kann ich nicht entscheiden.

Das hämolytische System von Maidorn änderte ich dahin ab, daß ich größere Quantitäten Blut zu den Versuchen verwendete, und zwar durchweg 1 ccm einer 5%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung in 0,85%iger Kochsalzlösung. Infolgedessen waren natürlich auch größere Extraktmengen zur Erzeugung kompletter Hämolyse erforderlich. Da ich aber von vornherein nur mit Methylalkohol verdünnte, ergab sich die Möglichkeit einer zu starken Konzentration desselben gegenüber der Blutkörperchenaufschwemmung und damit der Gefahr einer störenden durch den Methylalkohol hervorgerufenen Eiweißfällung vorzubeugen. Dieses suchte ich nach Möglichkeit dadurch zu vermeiden, daß ich die Gesamtflüssigkeit durch Kochsalzlösung auf ein höheres Volumen auffüllte, und zwar in jedem Falle auf 4 ccm. Wie ich festgestellt hatte, war in dieser Konzentration 0,6 ccm Methylalkohol der gerade nicht mehr hämolytisch wirkende Grenzwert. Dieses Quantum durfte daher nicht überschritten werden, um nicht etwa durch Methylalkohol allein Hämolyse zu erzeugen. So ergab sich folgendes Schema:

Versuch Nr.	Methylalkoholextrakt ccm	0,85%ige NaCl-Lösung	5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung
1	0,6	2,0 + 0,4	je 1 ccm
2	0,5	2,0 + 0,5	
3	0,4	2,0 + 0,6	
4	0,3	2,0 + 0,7	
5	0,2	2,0 + 0,8	
6	0,1	2,0 + 0,9	
7	—	3,0	

Nachdem hiernach die hämolytisch wirkende Extraktmenge im Groben bestimmt war, versuchte ich den Grenzwert noch genauer zwischen zwei Gliedern zu ermitteln, indem ich 10 Stufen dazwischen einschob, die untereinander eine Differenz von je 0,01 ccm aufwiesen.

Die Versuchstiere befanden sich bei Beginn in einem als normal zu bezeichnenden, einzelne — wie z. B. die zur chronischen Toluylendiaminvergiftung verwendeten — sogar in einem sehr guten Ernährungszustande. Bei der relativen Kleinheit der Kaninchenlebern im allgemeinen und bei dem stark differierenden Gewicht der verwendeten Versuchstiere und ihrer Lebern war es nicht gut angängig, gleichgroße Portionen der Organe zur Bestimmung des Lipoidgehaltes und der hämolytischen Wirkungen zu benutzen. Es wurde daher in allen Fällen die ganze Leber verarbeitet. Nachdem die absolute Menge der methylalkohollöslichen Fraktion bestimmt war, wurden die so gefundenen Werte in Prozente umgerechnet. So ergab sich die Möglichkeit eines direkten Vergleiches der einzelnen Resultate untereinander. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, daß die Organe sofort nach dem durch Entblutung herbeigeführten Tode der Tiere verarbeitet wurden. Ein spontaner Exitus wurde nach Möglichkeit verhütet; sobald ein Tier einen mori-

bunden Eindruck machte, wurde es getötet und gleichzeitig mit ihm auch die Kontrolltiere.

Bei der folgenden Zusammenstellung ist jedesmal angegeben, ob die Leber verfettet war oder nicht. Es muß jedoch betont werden, daß sich diese Notizen nur auf den makroskopischen Befund beziehen. Es kann daher nicht wundernehmen, daß in einigen Fällen diese Angaben mit der Menge des tatsächlich extrahierten Fettes in Widerspruch stehen. Wie Rosenfeld mit Recht immer wieder betont, läßt sich der Grad der Verfettung weder durch makroskopische noch durch mikroskopische Betrachtung auch nur annähernd schätzen. Der Eindruck reichlichen Fettgehaltes wird sehr häufig dadurch hervorgerufen, daß die vorher gleichmäßig in der Zellsubstanz verteilten und daher nicht sichtbaren Fette aus irgendeinem Grunde in Tropfenform ausfallen, während umgekehrt stark fetthaltige Organe einen durchaus normalen Eindruck machen können. Einzig ausschlaggebend kann hier nur die chemische Analyse sein.

I. Normallebern.

Die Tiere befanden sich in normalem Ernährungszustande und wurden durch Nackenschlag und Entblutung getötet. Die Extrakte wurden nur auf das Gewicht des Leberbreies und nicht wie sonst auf das Doppelte desselben aufgefüllt, weil in dieser Verdünnung eine komplette Hämolyse überhaupt nicht eintrat. Etwas störend wirkte es, daß bei dieser Konzentration nicht eine klare Lösung der Lipoide, sondern eine — allerdings völlig homogene — Emulsion entstand; die Beurteilung der Hämolysen wurde dadurch etwas erschwert. Die Resultate waren folgende:

Normal I: Gewicht des Kaninchens 1003 g. Gewicht des frischen Leberbreies 26,5 g, des Ätheracetonrückstandes 0,366 g = 1,38%, des Methylalkoholrückstandes 0,275 g = 1,038% des frischen Organbreies. 1 ccm des in Methylalkohol gelösten und auf 26,5 ccm aufgefüllten Extrakts enthielt also 0,01038 g Lipoide. Die Grenze der kompletten Hämolyse lag bei 0,36 ccm, entsprechend einer Lipoidmenge von 3,74 mg.

Normal II: Gewicht des Kaninchens 1183,5 g. Gewicht des frischen Leberbreies 35,0 g, des Ätheracetonrückstandes 0,5 g = 1,43%, des Methylalkoholrückstandes 0,317 g = 0,906% des frischen Organbreies. 1 ccm der Methylalkohollösung enthielt 0,00906 g Lipoide. Komplette Hämolyse zu erzeugen vermochten noch 0,48 ccm, 4,35 mg Lipoid enthaltend.

Als Mittelwert des methylalkohollöslichen Anteils der Normallebern ergaben sich also 0,972% des Organbreies. Die niedrigste Grenze der kompletten Hämolyse lag im Mittel bei einer Lipoidmenge von 4,045 mg.

II. Autolyse.

Im Anschluß hieran seien die Versuche erwähnt, die ich an autolysierten Organen anstellte.

Ein in normalem Ernährungszustande befindliches Kaninchen von 1936 g Gewicht wurde durch Entblutung getötet, die Leber jedoch nicht sofort verarbeitet, sondern 2 Tage bei Körpertemperatur sich selbst überlassen. Das Gewicht des Organbreies betrug nach dieser Zeit genau 50,0 g. Extrahiert wurde nach der angegebenen Methode ein methylalkohollöslicher Rückstand von 1,605 g = 3,21 % des Leberbreies. Der Rückstand erwies sich so stark hämolytisch, daß noch in zehnfacher Verdünnung mit Methylalkohol 0,15 ccm komplette Hämolyse erzeugten. In 1 ccm des auf das Lebergewicht (50,0) aufgefüllten Extraktes waren 0,0321 g Lipoide enthalten, in der zehnfachen Verdünnung also 0,003 21 g. Da noch 0,15 ccm in dieser Konzentration hämolysierend wirkten, lag der hämolytische Grenzwert bei einer Extraktmenge von 0,4815 mg.

Der Unterschied zwischen frisch verarbeiteter und autolysierter Leber ist also ein außerordentlich beträchtlicher, und zwar sowohl in quantitativer wie in qualitativer Beziehung. Gleiche Extraktmengen wirken nach der Autolyse fast 9 mal stärker, während die Menge der methylalkohollöslichen Lipoide an sich reichlich 3 mal so groß ist wie die von normalen Organen. Die Quelle dieser stark hämotoxischen Stoffe ist wohl auf eine Zersetzung des „Lecithins" zurückzuführen. Ob es sich dabei einfach um eine Spaltung handelt, wobei freie Fettsäuren entstehen (Joannovicz und Pick), die hämolytische Eigenschaften haben, oder um die Bildung von „Toxolecithiden" (Friedemann[1]) analog dem Kobralecithid von Kyes, ist nicht entschieden.

Bemerkenswert ist, daß sich unter pathologischen Bedingungen ähnliche Prozesse in nicht autolysierten Organen abspielen, z. B. bei den Phosphorlebern (Heffter), in der Placenta der Eklamptischen (Mohr und Heimann[2]).

---

[1]) Friedemann, Über die hämotoxischen Stoffe der Organe. Arch. f. Hyg. 69, 178.

[2]) Mohr und Heimann, Zur Chemie der normalen und Eklampsie-Placenta. Diese Zeitschr. 46, 5, 1912.

III. Fettleber durch Hunger.

Die Dauer der Hungerzeit betrug 5 Tage. Vor Beginn derselben waren die Tiere mehrere Tage sehr reichlich mit kohlenhydratreicher Nahrung (Kartoffeln) gefüttert worden. Die Extrakte wurden hier wie bei allen folgenden Versuchen auf das Doppelte des Lebergewichts aufgefüllt.

Hunger I: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 1020 g. Tod am 5. Hungertage durch Entblutung. Die Leber war nur wenig verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 25,5 g, des Ätheracetonrückstandes 0,830 g = 3,255%, des Methylalkoholrückstandes 0,522 g = 2,047%. 1 ccm der auf das doppelte Lebergewicht aufgefüllten Methylalkohollösung enthielt also 0,01024 g. Die Grenze der kompletten Hämolyse lag bei 0,24 ccm; darin waren 2,46 mg Lipoidsubstanzen enthalten.

Hunger II: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 1136,5 g. Nach 5 Hungertagen Tod durch Entblutung. Die Leber war makroskopisch deutlich verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 29,3 g, des Ätheracetonrückstandes 0,725 g = 2,4744%, des Methylalkoholrückstandes 0,564 g = 1,925% des Leberbreies. Die Grenze der Hämolyse lag bei 0,38 ccm der Methylalkohollösung, entsprechend einer Lipoidmenge von 3,76 mg.

Mittelwert der methylalkohollöslichen Fraktion der Hungerlebern gleich 1,986%, also reichlich doppelt so hoch wie bei den Normallebern. Als Mittelwert für die komplette Hämolyse ergab sich bei den Hungertieren 3,11 mg Extrakt.

Zwei andere Tiere, die bis zum 4. Tage gehungert hatten, wurden von da an mit Traubenzucker gefüttert und ebenfalls am 5. Tage, 24 Stunden nach Beginn der Zuckerfütterung, getötet. Die Resultate waren folgende:

Hunger + Traubenzucker I: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 1903 g, am 4. Tage vor Beginn der Traubenzuckerfütterung 1581 g, am 5. Tage 1605,5 g. Vom 4. zum 5. Tage hatte das Tier in etwas mehr als 24 Stunden etwa 50 bis 60 g Traubenzucker gefressen. Die Leber war nicht deutlich verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 47,2 g, des Ätheracetonrückstandes 0,775 g = 1,642%, des Methylalkoholrückstandes 0,440 g = 0,932% des Leberbreies. Niedrigste Grenze der kompletten Hämolyse bei 0,48 ccm der Methylalkohollösung gleich 2,24 mg Lipoid.

Hunger + Traubenzucker II: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 1057 g, am 5. Tage (nach der Zuckerfütterung) 901 g. Vom 4. bis 5. Tage hatte das Tier innerhalb 24 Stunden ca. 30 g Traubenzucker gefressen. Die Leber war nicht deutlich verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 29,0 g, des Ätheracetonrückstandes 0,538 g = 1,855%, des Methylalkoholrückstandes 0,498 g = 1,7172% des Leberbreies. Kom-

plette Hämolyse erzeugten noch 0,39 ccm der Lösung gleich 3,84 mg Extrakt.

Der Mittelwert der Methylalkoholfraktion der Hungerlebern III und IV beträgt somit 1,3246%, ist also wesentlich niedriger als bei den Hungertieren I und II, die keinen Traubenzucker bekommen hatten.

IV. Fettleber durch Phlorizin.

Der erste, der eine Verfettung durch Phlorizin beobachtete, war Rosenfeld. Er gab Hunden, die 5 Tage gehungert hatten, am 6. und 7. Tage 10 g Phlorizin auf 5 kg Körpergewicht. Tötete er die Tiere am 8. Tage, so fand sich eine beträchtliche Verfettung der Leber, die bis zu 75% der Trockensubstanz betrug. Ließ er die Tiere weiter am Leben, so heilte die Fettleber. Ferner beobachtete er ein Ausbleiben der Verfettung, wenn außer dem Phlorizin Glykogenbildner gegeben wurden. Daraus zieht er den Schluß, daß es sich um eine reine Infiltrationsverfettung handeln müsse. Bei mir gestaltete sich die Versuchsanordnung etwas anders. Das Phlorizin wurde nicht per os, sondern subcutan in Wasser verabreicht, dem zur Erhöhung der Löslichkeit eine Spur Alkohol zugesetzt war. Es wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen Phlorizin gegeben, und zwar in geringerer Menge als in den Rosenfeldschen Versuchen: auf ca. 1 kg Lebendgewicht 0,3 g. Getötet wurden die Tiere am 3. Tage, ungefähr 6 bis 8 Stunden nach der letzten Phlorizindarreichung. Die Tiere I und II blieben während der Dauer des Versuchs ohne Nahrung.

Phlorizin I: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 1326,5 g. Phlorizin wurde gegeben am 1. bis 3. Tage je 0,4 g. Gewicht am Ende des 3. Tages 957 g. Die Leber war makroskopisch nur wenig verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 29,0 g, des Ätheracetonrückstandes 0,562 g = 1,938%, des Methylalkoholrückstandes 0,519 g = 1,79% des Leberbreies. Die Grenze der kompletten Hämolyse lag bei 0,25 ccm der Methylalkohollösung gleich 2,24 mg Extrakt.

Phlorizin II: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 2344,5 g. Phlorizin am 1. bis 3. Tage je 0,7 g. Gewicht am Ende des 3. Tages 1828,5 g. Die Leber war makroskopisch nicht verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 43,2 g, des Ätheracetonrückstandes 0,972 g = 2,25%, des Methylalkoholrückstandes 0,890 g = 2,06%. Niedrigste Grenze der kompletten Hämolyse bei 0,19 ccm der Methylalkohollösung, entsprechend einer Lipoidmenge von 1,95 mg.

Der Mittelwert der Methylalkoholfraktion der Phlorizinlebern I und II betrug also 1,925%. Die Verfettung durch 3 tägige Phlorizinverabreichung ist annähernd die gleiche wie durch 5 tägiges Hungern. Die hämolytische Wirksamkeit ist jedoch hier stärker als bei den Lebern der Hungertiere. 2,095 mg Extrakt im Mittel sind bei den Phlorizintieren schon imstande, 1 ccm einer 5%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung vollständig zu lösen, während dies bei den Hungertieren erst 3,11 mg vermögen.

Zwei in derselben Weise mit Phlorizin behandelte Tiere wurden mit Traubenzucker gefüttert, und zwar begann die Fütterung ca. 30 Stunden vor der Tötung. Die Resultate waren folgende:

Phlorizin + Traubenzucker I: Gewicht des Kaninchens bei Beginn 1164 g. Am 1. bis 3. Tage wurden je 0,35 g Phlorizin gegeben. Gewicht am Ende des 3. Tages 893 g. Die Leber war deutlich verfettet, enthielt sehr viel Coccidien, deren vollständige Entfernung nicht möglich war. Gewicht des frischen Organbreies 33,2 g, des Ätheracetonrückstandes 0,744 g = 2,24%, des Methylalkoholrückstandes 0,562 g = 1,693%. Die Grenze der kompletten Hämolyse bei 0,26 ccm der Methylalkohollösung gleich 2,20 mg Extrakt.

Phlorizin + Traubenzucker II: Gewicht des Kaninchens bei Beginn 2518 g. Phlorizin wurde am 1. bis 3. Tage je 0,76 g gegeben. Gewicht am Ende des 3. Tages 2125 g. Die Leber war deutlich in toto verfettet. Gewicht des frischen Organbreies 45,0 g, des Ätheracetonrückstandes 0,819 g = 1,82%, des Methylalkoholrückstandes 0,716 g = 1,591%. Der Grenzwert der kompletten Hämolyse betrug 0,17 ccm Methylalkohollösung, entsprechend einer Lipoidmenge von 1,35 mg.

Der Mittelwert für die Methylalkoholfraktion der Phlorizinlebern III und IV betrug 1,642% des frischen Organbreies. Der Einfluß des Traubenzuckers ist hier also geringer als bei den Hungertieren.

V. Fettleber durch akute Toluylendiaminvergiftung.

Auch das Toluylendiamin wurde nicht per os, sondern subcutan in Wasser gelöst verabreicht. Die Dauer der Vergiftung betrug in allen 4 Fällen etwas weniger als 3 Tage. Gegeben wurde das Gift am 1. und 2. Tage. 18 bis 20 Stunden nach der letzten Injektion starb das eine Tier; wenige Minuten nach dem Exitus wurde die Leber entnommen und verarbeitet. Gleichzeitig wurden auch die drei übrigen Kaninchen getötet

und ihre Lebern in derselben Weise behandelt. Ein deutlicher Ikterus trat in keinem Falle auf.

Toluylen akut I: Das Gewicht des Kaninchens betrug zu Anfang 1291 g. Toluylendiamin wurde am 1. und 2. Tage subcutan gegeben, und zwar je 0,4 g. Getötet wurde das Tier am 3. Tage. Die Leber war deutlich in toto verfettet, enthielt sehr viel Coccidien, deren Entfernung nur unvollständig möglich war. Gewicht des frischen Organbreies 42,5 g, des Methylalkoholrückstandes 1,058 g = 2,49% der Leber. Komplette Hämolyse zu erzeugen vermochten noch 0,09 ccm der Methylalkohollösung, entsprechend einer Extraktmenge von 1,12 mg.

Toluylen akut II: Das Tier, dessen Gewicht anfangs 1231,5 g betrug, erhielt ebenfalls am 1. und 2. Tage je 0,4 g subcutan. Getötet wurde es am 3. Tage. Die Verfettung der Leber war makroskopisch nur gering. Der frische Organbrei wog 40,0 g, der Methylalkoholrückstand 0,901 g = 2,25%. Von der methylalkoholischen Lösung genügten 0,12 ccm zur Erzeugung kompletter Hämolyse, entsprechend einer Extraktmenge von 1,35 mg.

Der Mittelwert der methylalkohollöslichen Lipoide bei diesen beiden Lebern betrug somit 2,37%. Als Durchschnitt für die hämolytisch wirkenden Extraktmengen ergibt sich 1,24 mg. Der Grenzwert der Hämolyse ist hier also ein bedeutend höherer als bei den Phlorizin- und Hungertieren. So besteht einmal ein quantitativer Unterschied zwischen den Hunger- und Phlorizinlebern einerseits und den Toluylenlebern andererseits; in den letzteren sind mehr methylalkohollösliche Lipoide enthalten als in den ersteren. Außerdem verhalten sich aber die Extrakte auch qualitativ verschieden. Bei den Toluylenlebern sind weit kleinere Quantitäten imstande, Hämolyse zu erzeugen. Gleiche Extraktmengen enthalten also ganz verschiedene Mengen hämolytischer Substanzen.

Toluylen akut + Traubenzucker I: Das 2106 g schwere Kaninchen bekam am 1. und 2. Tage je 0,65 g Toluylen subcutan. Es starb am 3. Tage, ca. 20 Stunden nach der 2. Injektion. Traubenzucker hatte das Tier ungefähr in folgenden Quantitäten gefressen: 1. Tag: 25 bis 30 g; 2. Tag: etwa 60 g; 3. Tag: 40 g. Makroskopisch bestand eine deutliche, wenn auch nicht sehr starke Leberverfettung. Der frische Organbrei wog 57,0 g; er ergab einen Methylalkoholrückstand von 1,238 g = 2,172% des Lebergewichtes. 0,1 ccm der auf 114 ccm aufgefüllten Methylalkohollösung wirkten noch komplett hämolysierend, entsprechend einer Extraktmenge von 1,09 mg.

Toluylen akut + Traubenzucker II: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 1249,5 g. Injiziert wurden am 1. und 2. Tage je 0,4 g Toluylen. Am 3. Tage wurde das Tier in moribundem Zustande getötet.

Die Mengen des gefressenen Traubenzuckers waren: 1. Tag: 25 g; 2. Tag: ca. 30 g; 3. Tag: ca. 30 g. Die Leber war makroskopisch nur wenig verfettet. Der frische Leberbrei wog 40 g; der Methylalkoholrückstand 0,998 g = 2,485 %. Von der auf das Doppelte des Lebergewichts (80,0 g) aufgefüllten Methylalkohollösung waren noch 0,13 g imstande, komplette Hämolyse zu machen. Hierin waren 1,62 mg Extrakt enthalten.

Die in Methylalkohol löslichen Lipoide der beiden Lebern machten im Mittel 2,33 % des Lebergewichts aus. Man sieht, daß bei den Traubenzuckertieren die Verfettung fast genau so beträchtlich ist wie bei den zuckerfrei behandelten, ein Verhalten, das von dem der Phlorizin- und Hungertiere abweicht. Auch auf die hämolytische Wirkung hat die Traubenzuckerfütterung keinen nennenswerten Einfluß ausgeübt. Einem Durchschnittswert von 1,24 mg bei den Tieren I und II entspricht ein solcher von 1,35 mg bei den Tieren III und IV.

VI. Fettleber durch chronische resp. subakute Toluylendiaminvergiftung.

Die Dauer der Vergiftung betrug 14 Tage (vom 10. IX. bis 23. IX.). Gegeben wurde das Toluylend. bei allen 4 Tieren in folgender Weise: am 10., 12., 13., 14. IX. 1912 je 0,13 g; am 17., 19., 21., 23. IX je 0,2 g. Nr. I und II blieben auch hier während der ganzen Zeit ohne Nahrung.

Toluylend. chronisch I: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 2957,3 g; nach 6 Tagen 2305 g, nach 14 Tagen 1794 g. Am 9. Tage trat ein ganz leichter Ikterus der Konjunktiven auf, der in gleicher Intensität, ohne sich zu verstärken, bis zum Schlusse bestehen blieb. Am 14. Tage, 10 Stunden nach der Tol.-Injektion, wurde das Tier, das an den letzten 2 Tagen einen sehr dekrepiden Eindruck machte, getötet. Die Leber war beträchtlich verfettet. Das Gewicht des frischen Organbreies betrug 37,5 g. Gewicht des Ätheracetonrückstandes 0,773 g = 2,06 %; des Methylalkoholrückstandes 0,599 g = 1,5973 %. Die niedrigste Grenze der kompletten Hämolyse lag bei 0,28 ccm der methylalkoholischen Lösung gleich 2,24 mg Extrakt.

Toluylend. chronisch II: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 2490 g, nach 6 Tagen 1998 g, nach 14 Tagen 1595 g. Ein deutlicher Ikterus war nicht zu konstatieren. Am 14. Tage, unmittelbar nach der letzten Tol.-Injektion, ging das Tier plötzlich zugrunde. Die Leber, die keine deutliche Verfettung aufwies, wurde sofort verarbeitet. Der frische Organbrei wog 38,0 g, der Ätheracetonrückstand 0,732 g = 1,925 %, der Methylalkoholrückstand 0,636 g = 1,6737 %. Komplette Hämolyse machten noch 0,23 ccm, was einer Extraktmenge von 1,93 mg entsprechen würde.

Der Prozentgehalt der Lebern dieser beiden Tiere an methylalkohollöslichen Lipoiden betrug also im Mittel 1,6355;

während die Grenze der kompletten Hämolyse im Mittel bei 2,085 mg lag.

Die Traubenzuckerfütterung der in gleicher Weise mit Toluylendiamin behandelten Tiere III und IV begann am 2. Tage und wurde bis zum Schlusse fortgesetzt. Beide Tiere fraßen schätzungsweise ca. 50 g Traubenzucker pro die.

Toluylend. chronisch mit Traubenzucker I: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 2520 g, nach 6 Tagen 2272 g, nach 14 Tagen 2063 g. Erst kurze Zeit vor dem Exitus trat ein leichter Ikterus auf. Das Tier war an den letzten beiden Tagen vollkommen indolent und nahm während dieser Zeit nur sehr wenig Traubenzucker. Am 14. Tage, 10 bis 12 Stunden nach der letzten Injektion, wurde es getötet. Die Leberschnittfläche zeigte geringen Fettglanz. Das Gewicht des frischen Organbreies betrug 40,0 g. Der Ätheracetonrückstand wog 0,612 g = 1,53%. Der Methylalkoholrückstand wog 0,508 g = 1,27%. 0,19 ccm der methylalkoholischen Lösung wirkten noch komplett hämolysierend, 1,21 mg Extrakt enthaltend.

Toluylend. chronisch mit Traubenzucker II: Gewicht des Kaninchens zu Beginn 2880 g; nach 6 Tagen 2583 g, nach 14 Tagen 2424 g. Ein deutlicher Ikterus trat hier nicht auf. Die Leber war nicht deutlich verfettet. Der frische Organbrei wog 66,0 g, der Ätheracetonrückstand 0,898 g = 1,36%, der Methylalkoholrückstand 0,640 g = 0,97%. Komplett hämolysierend wirkten noch 0,32 ccm der Methylalkohollösung, entsprechend einer Lipoidmenge von 1,55 mg.

Das Gewicht des Methylalkoholrückstandes betrug also bei diesen Tieren im Mittel 1,12% des Leberbreies, während der Mittelwert der hämolytisch wirkenden Extraktmengen bei 1,38 mg lag. Der Einfluß der Traubenzuckerfütterung ist also hier im Gegensatz zur akuten Vergiftung ziemlich bedeutend. Die Lebern der Zuckertiere erreichen annähernd den Zustand der Normallebern. Dieses Ergebnis ist um so bemerkenswerter, als die Fütterung mit Traubenzucker bei weitem nicht ausreichte, die Tiere auf ihrem ursprünglichen Gewichte zu erhalten. Im übrigen bestätigen sich die Befunde, die Joannovicz und Pick sowie Maidorn bei der chronischen Tol.-Vergiftung erheben konnten. Die Menge der methylalkohollöslichen Lipoide ist bei der chronischen Vergiftung wesentlich kleiner als bei der akuten.

VII. Fettleber durch Überhitzung.

Daß man durch länger dauernde Einwirkung erhöhter Temperaturen auf den Organismus eine Verfettung besonders der Leber sowie auch anderer parenchymatöser Organe zu er-

zeugen vermöge, beobachtete zuerst Litten[1]) an Meerschweinchen. Man hat auch diese vielfach bestätigte Form der Verfettung als Infiltration (Rosenfeld) aufgefaßt, zumal Naunyn bei mit Grünfutter ernährten Kaninchen, die er der Einwirkung erhöhter Temperaturen aussetzte, keine Leberverfettung beobachtete.

Ich setzte 2 Kaninchen in der Weise einer Überhitzung aus, daß ich sie in einem elektrischen Lichtkasten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 12 bis 14 Stunden bei einer Temperatur beließ, die ich konstant auf etwa 40° zu halten suchte. Dies gelang auch bis zu einem gewissen Grade, nur einige Male stieg das Thermometer auf kurze Zeit um wenige Grade höher. Das erste der beiden Tiere blieb ohne Nahrung, während das andere von vornherein mit Traubenzucker gefüttert wurde. Das Resultat war folgendes:

Überhitzung I: Das Tier wog zu Beginn 1915,5 g; es wurde 3 Tage in der angegebenen Weise — mit Unterbrechung während der Nacht — überhitzt und blieb während dieser Zeit ohne Futter. Sein Gewicht sank dadurch auf 1460 g. Tod durch Entblutung am Ende des 3. Tages. Die Leber war deutlich verfettet. Der frische Organbrei wog 60,0 g, während der Methylalkoholrückstand ein Gewicht von 1,038 g = 1,73% hatte. Von dem auf 120 ccm aufgefüllten Extrakte wirkten noch 0,3 ccm komplett hämolysierend, entsprechend einer Lipoidmenge von 2,595 mg.

Überhitzung II: Anfangsgewicht des Tieres 1456 g. Überhitzung in derselben Weise wie bei I. Während der 3 Tage Fütterung mit Traubenzucker, von dem pro die etwa 30 g gefressen wurden. Gewicht des Tieres am Ende des 3. Tages 1174 g. Deutliche Verfettung der Leber. Der frische Organbrei wog 37,0 g, der Methylalkoholrückstand 0,614 g = 1,66% des frischen Organes. Von der auf das Doppelte des Lebergewichtes (74,0 g) aufgefüllten Methylalkohollösung wirkten noch 0,28 ccm komplett hämolysierend gleich 2,324 mg Extrakt.

Der Extrakt aus den Lebern der Traubenzuckertiere weist also stärkere hämolytische Eigenschaften auf als der von den hungernden Tieren gewonnene. Wie man sieht, kann ich die Resultate Naunyns nicht bestätigen; der Einfluß der Traubenzuckerfütterung auf die Extraktmenge ist so minimal, daß er kaum ins Gewicht fällt. Allerdings ist zuzugeben, daß die Zahl der Versuche für allgemeine Schlüsse zu gering ist.

Zur besseren Übersicht will ich die gefundenen Resultate noch einmal in einer Tabelle zusammenstellen.

[1]) Litten, Über die Einwirkung erhöhter Temperaturen auf den Organismus. Arch. f. pathol. Anat. 70, 10.

Tabelle.

	Leber-gewicht g	Äther-Aceton-Rückstand g	%	Methylalkohol-rückstand g	%	%	Hämolytisch wirkende Extrakt-mengen mg	
Normal I	26,5	0,366	= 1,38	0,275	= 1,038	0,972	3,74	4,045
„ II	35,0	0,500	= 1,43	0,317	= 0,906		4,35	
Hunger I	25,5	0,830	= 3,255	0,522	= 2,047	1,986	2,46	3,11
„ II	29,3	0,725	= 2,4744	0,564	= 1,925		3,76	
„ + Tr.-Z. I	47,2	0,775	= 1,642	0,440	= 0,932	1,3246	2,24	2,79
„ + „ II	29,0	0,538	= 1,855	0,498	= 1,7172		3,34	
Phlorizin I	29,0	0,562	= 1,938	0,519	= 1,79	1,925	2,24	2,095
„ II	43,2	0,972	= 2,25	0,890	= 2,06		1,95	
„ + Tr.-Z. I	33,2	0,744	= 2,24	0,562	= 1,693	1,642	2,20	1,78
„ + „ II	45,0	0,819	= 1,82	0,716	= 1,591		1,35	
Toluyl. akut I	42,5			1,058	= 2,49	2,37	1,12	1,24
„ „ II	40,0			0,901	= 2,25		1,35	
„ „ + Tr.-Z. I	57,0			1,238	= 2,172	2,33	1,09	1,355
„ „ + „ II	40,0			0,998	= 2,485		1,62	
Toluyl. chron. I	37,5	0,773	= 2,06	0,599	= 1,5973	1,636	2,24	2,085
„ „ II	38,0	0,732	= 1,925	0,636	= 1,6737		1,93	
„ „ + Tr.-Z. I	40,0	0,612	= 1,53	0,508	= 1,27	1,12	1,21	1,38
„ „ + „ II	66,0	0,898	= 1,36	0,640	= 0,97		1,55	
Überhitzung	60,0			1,038	= 1,73		2,595	
„ + Tr.-Z.	37,0			0,614	= 1,66		2,324	
Autolyse	50,0			1,605	= 3,21		0,4815	

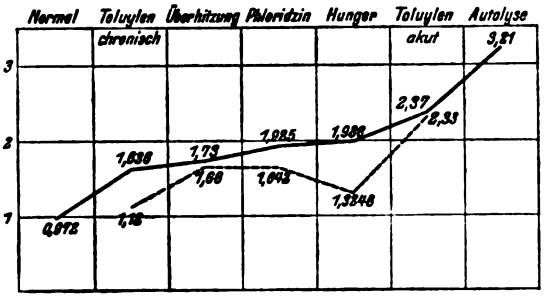


Fig. 1. Lipoidgehalt in %.
——— Tiere ohne Traubenzucker.
..... Tiere mit Traubenzucker.

Wie aus der Kurve I hervorgeht, zeigt den größten Gehalt an methylalkohollöslichen Lipoiden die autolysierte Leber, die anderen Verfettungen bleiben zum Teil beträchtlich hinter ihr zurück.

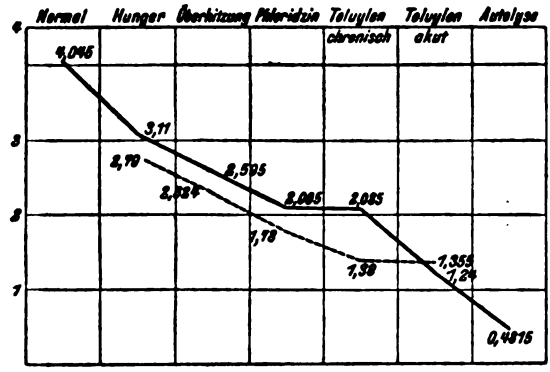


Fig. 2. Graphische Darstellung der Lipoidmengen (in Milligramm), die imstande sind, 1 ccm einer 5 % igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung zu lösen.

Was die Wirkung der Traubenzuckerfütterung betrifft, so ist in allen Fällen ein Einfluß auf den Lipoidgehalt der Leber zu konstatieren; allerdings ist er bei der Überhitzung und bei der akuten Toluylendiaminvergiftung so minimal, daß er innerhalb der Fehlergrenze liegt. Dagegen zeigen die Organe der Traubenzuckertiere bei der Phlorizin- und der chronischen Toluylendiaminvergiftung sowie im Hungerzustande eine ziemlich beträchtliche Verminderung des Fettgehaltes gegenüber den zuckerfrei behandelten Tieren. Die Theorie Rosenfelds erfährt hierdurch insofern eine Bestätigung, als durch Kohlenhydratzufuhr die Organverfettung tatsächlich bis zu einem gewissen Grade verhindert bzw. die schon vorhandene wieder rückgängig gemacht wurde. Im Gegensatz hierzu ist die hämolytische Kraft der Extrakte durch den Traubenzucker nicht vermindert worden, im Gegenteil, fast durchweg ist ein stärkerer hämolytischer Effekt bei den Organen der Zuckertiere festzustellen; einzig davon ausgenommen ist die akute Toluylendiaminvergiftung, bei der die Kohlenhydratfütterung weder quantitativ noch qualitativ einen Einfluß auf die Lipoidsubstanzen ausübte.

Die einfachste Deutung dieser Resultate scheint mir folgende zu sein: Das Fett der Extrakte besteht aus zwei Komponenten, von denen die eine hämolytische Fähigkeiten besitzt, die andere dagegen nicht. Die Wirkung des Traubenzuckers erstreckt sich nur auf die letztere, die dadurch zurückgedrängt

wird. Infolgedessen kommt die erstere mehr zur Geltung, da sie nun in stärkerer Konzentration in den Extrakten enthalten ist. Der nicht hämolytisch wirkende Anteil dürfte dem Neutralfett entsprechen, das infolge des durch die Ernährungsstörung bedingten Fetttransportes aus den Depots einwandert, während die hämotoxische Komponente wahrscheinlich aus den Lipoiden der Organzellen entsteht.

Ein Einwand ließe sich allerdings gegen diese Beweisführung erheben, nämlich der, daß der Einfluß des Traubenzuckers auf das Gesamtfett nicht untersucht, sondern immer nur ein Teil desselben, die Methylalkoholfraktion, berücksichtigt worden ist. Immerhin lehrt ein Blick auf die Tabelle, daß auch der Ätheracetonrückstand, bei dem vom Gesamtfett nur die Phosphatide fehlen, bei den Traubenzuckertieren überall geringer ist als bei den zuckerfrei behandelten Tieren.

In den Rahmen der Mohrschen Hypothese würden die eben erörterten Anschauungen jedenfalls gut passen. Man sieht, daß die Organverfettung kein einheitlicher Prozeß ist, sondern sich aus zwei Vorgängen zusammensetzt: aus der Fettinfiltration, die infolge der Ernährungsstörung einsetzt, und aus der Fettdegeneration infolge der Einwirkung des lipoidlöslichen Giftes auf die Lipoide der Zellmembran und des Protoplasmas. Hämolytische Fähigkeit kommt nur den aus den Organzellen freiwerdenden Lipoidstoffen zu, während das infiltrierte Fett nicht oder doch nur in geringem Maße blutkörperzerstörend wirkt. Je mehr die Degenerationszustände hervortreten, um so stärker ist die hämolytische Wirkung. Bemerkenswert ist, daß auch im einfachen Hungerzustande ohne Giftzufuhr sich hämolytische Stoffe bilden. Während bei den Normaltieren 4,05 mg Extrakt nötig waren, um 1 ccm der Blutkörperchenaufschwemmung vollständig zu lösen, hatten bei den Hungertieren schon 3,11 mg dieselbe Wirkung. Es ist ja auch ohne weiteres einleuchtend, daß bei einer derartig eingreifenden Prozedur, wie sie eine vollständige Entziehung der Nahrung bedeutet, die Organzellen eine Alteration erfahren, die allerdings in unserem Falle nicht sehr bedeutend ist. Auf diese Weise würde sich der stärkere hämolytische Effekt gegenüber den Normaltieren erklären. Durch die nachträgliche Zuführung von Traubenzucker geht die Infiltrationsverfettung zurück, während das „Degenerationsfett"

nun prozentualiter in den Extrakten überwiegt. Daher die stärkere Hämolyse. Allerdings könnte diese Erklärung gerade bei den Hungertieren gewissen Schwierigkeiten begegnen, da mit der Zuführung der Kohlenhydrate auch der Grund für eine Degeneration wegfällt. Möglicherweise liegen hier die Verhältnisse so, daß durch die Zuckerfütterung zunächst nur die Infiltration aufhört bzw. eingeschränkt wird, während die bereits vorhandenen Degenerationszustände der Zellen längere Zeit zu ihrer Regeneration bedürfen. Dabei muß man die Frage aufwerfen, ob nicht durch den Zerfall der Zellen im Hungerzustande Stoffe entstehen, die ihrerseits wieder toxische Wirkungen im Organismus entfalten. Dasselbe gilt auch von den überhitzten Tieren: auch hier liegt die Möglichkeit vor, daß durch die Zellschädigung Produkte sich bilden, von denen wiederum eine Giftwirkung ausgeht. Eine sichere Entscheidung in dieser Frage, deren Lösung für die Lehre vom Fieberstoffwechsel von sehr großer Bedeutung sein würde, können die angestellten Versuche natürlich nicht bieten.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist bei den Phlorizintieren der Einfluß des Traubenzuckers etwas geringer als bei den Hungertieren. Dieses Resultat ist mit den Angaben Rosenfelds, der durch Glykogenbildner die Verfettung vollständig verhinderte, nicht ganz in Einklang zu bringen. Ließe sich dieser Gegensatz allenfalls daraus erklären, daß Rosenfeld vom ersten Tage an zugleich mit dem Phlorizin Zucker verabreichte, während dies bei meinen Versuchen erst während der letzten 30 Stunden geschah, so spricht doch das biologische Verhalten dieser Lipoide gegen die Behauptung Rosenfelds, daß es sich bei der Phlorizinverfettung ausschließlich um Infiltration aus den Fettdepots handelt. Denn der hämolytische Wert ist hier, wie bereits erörtert, gegenüber den Hungertieren wieder gestiegen. Auch die stärkere Hämolyse der Traubenzuckertiere spricht dafür, daß Degenerationen mit im Spiele sind. Durch die Zuckerfütterung wird eben die Infiltrationsverfettung geringer, während das Degenerationsfett in den Extrakten relativ überwiegt. Rosenfeld erwähnt als Stütze für seine Theorie Versuche an Hammelfetthunden; d. h. an Hunden, deren Depots erst durch längeren Hunger fettfrei gemacht und dann mit Hammelfett durch Verfütterung desselben

angefüllt waren. Gab er diesen Tieren Phlorizin, so beobachtete er, daß das aus der Leber extrahierte Fett bis zu 50% aus Hammelfett bestand. Aus diesem Resultat läßt sich nur ersehen, daß das Leberfett zur Hälfte aus Infiltrationsfett besteht. Über die Herkunft und die Art der anderen 50% läßt sich nichts aussagen. Die Schlußfolgerung Rosenfelds, daß man aus diesem Versuche auf eine reine Fettinfiltration schließen könne, scheint mir nicht zwingend. Dieses Ergebnis bildet also auch keinen Gegenbeweis gegen die oben näher erörterte Ansicht, daß die Fettleber bei Phlorizinvergiftung zum Teil auf Infiltration beruht, zum Teil aber auch Degenerationsvorgängen ihre Entstehung verdankt.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der akuten Toluylendiaminvergiftung. Da der Traubenzucker hier ohne Wirkung ist, würde man im Sinne der obigen Ausführungen eine „Degenerationsverfettung" anzunehmen haben, die durch Glykogenbildner eben nicht beeinflußt wird. Allerdings ist dieser Schluß nicht ohne weiteres zwingend, man könnte beispielsweise annehmen, daß das Toluylendiamin eine Glykogenbildung aus der Nahrung unmöglich macht und aus diesem Grunde die Leberzellen gezwungen werden, zur Erhaltung ihrer Spannkraft Fett in größeren Mengen aus den Depots heranzuziehen. Infolgedessen würde man dann trotz der Traubenzuckerfütterung eine ebenso beträchtliche Verfettung finden wie bei den hungernden Tieren. Diese Anschauung wird von Rosenfeld in bezug auf die Phosphorvergiftung vertreten, bei der ebenfalls die Zuckerfütterung ohne Wirkung ist. Rosenfeld erklärt das aus der Annahme, daß die Leber durch Phosphorvergiftung eine Schädigung ihrer Funktion erfährt; sie soll die Fähigkeit, Glykogen aus der Nahrung zu bilden und in ihren Zellen aufzuspeichern, verlieren.

Diese Erklärung ist aber nicht ausreichend für unser Resultat bei der Toluylendiaminvergiftung. Denn wir haben annähernd den gleichen Befund bei der Toluylendiamin- und der autolysierten Leber, d. h. eine beträchtliche Vermehrung hämotoxischer Lipoidsubstanzen. Bei der Autolyse handelt es sich aber nicht um ein von außen hinzugekommenes Fett, also um Infiltrationsverfettung, sondern um „Degeneration". Daraus ist der Schluß berechtigt, daß auch die Toluylendiaminverfettung

degenerativer Natur ist. Ob das Fehlen einer Traubenzuckerwirkung mehr für die Rosenfeldsche Annahme einer funktionellen Leberschädigung spricht oder für die eben erörterte Anschauung, daß es sich hierbei um Degenerationszustände handelt, die durch Kohlenhydrate nicht beeinflußt werden, lasse ich dahingestellt. Die letztere Annahme scheint mir jedenfalls die größere Wahrscheinlichkeit für sich zu haben.

Zusammenfassung.

Fassen wir die Resultate dieser Untersuchungen zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Die Organverfettungen setzen sich aus zwei Komponenten zusammen: aus der Fettdegeneration, die infolge der Dekomposition der Organzellen entsteht, und der Fettinfiltration aus den Fettdepots.

2. Hämolytische Stoffe entstehen nur bei der Fettdegeneration. Das aus den Depots infiltrierte Fett ist ohne Einfluß auf die hämolytische Fähigkeit der Extrakte.

3. Am stärksten hämolytisch wirkt der Extrakt der autolysierten Organe. Bei der Fettdegeneration spielen sich ähnliche Prozesse wie bei der Autolyse ab. Je mehr Degenerationsfett die Extrakte enthalten, um so mehr nähern sie sich in ihrem biologischen Verhalten dem autolysierten Organ.

4. Durch die Traubenzuckerfütterung wird nur die Infiltration eingeschränkt. Diejenige Komponente der Verfettung, die degenerativen Prozessen ihre Entstehung verdankt, wird durch Kohlenhydratfütterung nicht beeinflußt. Infolgedessen steigt bei den Traubenzuckertieren der hämolytische Grenzwert: Die Infiltration nimmt hier ab, wodurch das Degenerationsfett mehr zur Geltung kommt, da es nun prozentualiter überwiegt.

Muskulatur und Glykolyse.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Alfred Gigon und **Max Massini.**

(Aus der Allgemeinen Poliklinik zu Basel.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

Die Muskulatur dürfte im lebenden Organismus die Hauptstätte der Zuckerzerstörung sein. Die Bedingungen der Zuckerverbrennung im Muskel sind aber bis jetzt noch unbekannt. Vor 10 Jahren veröffentlichte O. Cohnheim[1]) eine Anzahl von Untersuchungen, die ihn zu einem Resultat von der größten Bedeutung führen sollten. Er glaubte gefunden zu haben, daß Muskel- und Pankreassaft jedes für sich digeriert nur geringe Mengen Zucker zerstörte, eine Mischung der Preßsäfte dagegen große Traubenzuckermengen zu zerstören imstande war. Seine Schlußfolgerungen fanden aber in Embden und Claus[2]) scharfe Kritiker. Im Jahre 1906 erschien eine letzte Publikation Cohnheims[3]), in der derselbe seine ursprüngliche Ansicht etwas modifizierte. Nach seinen letzten Versuchen sollte auch der Muskelpreßsaft allein eine glykolytische Fähigkeit entfalten können. Trotz dieser letzten Mitteilung Cohnheims wird jetzt in der Literatur meistens der Standpunkt vertreten, daß entsprechend den Embden-Clausschen Versuchen weder Muskel- noch Pankreassaft, noch eine Mischung beider Säfte das Vermögen, Traubenzucker zu zerstören, besitzen. Vor kurzem wollen Starling, Wilenko, Loewi am überlebenden Herzen

[1]) O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 396, 1903 und **42**, 401, 1904.

[2]) Embden und Claus, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 214 und 343, 1905.

[3]) O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 253, 1906.

die Fähigkeit, Zucker zu verbrennen, gefunden haben. Von dem Gedanken ausgehend, daß die Muskulatur eine intensive glykolytische Fähigkeit besitzen muß, daß diese Eigenschaft aber nicht nur dem lebenden, sondern auch dem toten Gewebe zukommen sollte, haben wir einige Untersuchungen zur Prüfung dieser Frage wieder unternommen. Die Versuche Embdens konnten vielleicht nur deswegen negativ ausgefallen sein, weil die Versuchsanordnung irgendwo auf die zuckerzerstörende Wirkung der Muskulatur hemmend wirkte.

Die positiven Resultate, die wir bis jetzt bereits erhalten haben, möchten wir hier kurz mitteilen.

Versuchsmethodik.

Der heftigste Angriff, den die Lehre Cohnheims erfuhr, ist der, daß die nachgewiesene Zuckerzerstörung die Folge einer bakteriellen Einwirkung gewesen sei. Die erste Bedingung war für uns, die Versuche möglichst steril auszuführen. Wir glauben, dieser in weitestgehendem Maße entsprochen zu haben. Wir haben unsere Versuche unter aseptischen Kautelen durchgeführt: dadurch gewinnt man den großen Vorteil, ohne Antiseptica, d. h. Toluol, Chloroform usw., arbeiten zu können.

Sämtliche vorläufig publizierten Versuche wurden mit Kaninchenmuskulatur gemacht.

Junge, gesunde Kaninchen von ca. 1 kg Gewicht wurden ohne Narkose am Operationsbrett festgebunden und aus der einen Carotis möglichst gründlich entblutet. Sofort nachher wurde nach den üblichen chirurgischen aseptischen Vorsichtsmaßregeln (Desinfizieren der Hände, Kochen der Instrumente, Desinfizieren der in Frage kommenden Hautfläche des Tieres) das Fell des Tieres an den unteren Extremitäten und am Abdomen entfernt. Aus der Extremitätenmuskulatur wurden fettfreie Stücke mit der Schere entfernt und sofort in ein steriles trockenes Becherglas, das in einer Kältemischung (Eis + NaCl) bereit stand, hineingebracht. Bei den Tieren, bei denen Pankreas, Leber, Nebennieren verwendet wurden, wurden diese Organe ebenfalls sofort nach dem Entbluten und völlig aseptisch entfernt und wie die Muskelstücke in der Kältemischung aufbewahrt. Sobald wir aus dem Tier genügend Muskulatur gewonnen hatten (die Muskulatur einer unteren Extremität ge-

nügte meistens), d. h. wenige Minuten nach dem Tode des Tieres, werden in einzelnen ca. 2 bis 3 g-Portionen die mit der Schere zerkleinerten Muskeln in sterilisiertem Leder mittels Kohlensäureschnee zum Frieren gebracht und im gefrorenen Zustande mit einem Pistil zerrieben. Das Pulverisieren geschah in dem Leder selbst; letzteres wird durch den Kohlensäureschnee steinhart. Nach 15 bis 20 Versuchen ist das Leder nicht mehr brauchbar.

Statt des Muskelpreßsaftes verwendeten wir direkt das so gewonnene Muskelpulver. Das Pulver wurde noch in gefrorenem Zustande gewogen. Je ca. 2 g Pulver wurden in sterilisierten größeren Pulverflaschen mit geschliffenen Stöpseln gebracht. Mittels sterilisierten Pipetten wurden 20 ccm $1\,^0/_0$iger Traubenzuckerlösung und dazu meistens 20 ccm Ringerlösung hinzugetan. Die Muskel-Zucker-Ringermischung wurde in einzelnen Versuchen mit Natron bicarbon. bis zur leicht alkalischen Reaktion versetzt. Zu diesem Zwecke wurde mit einer jedesmal ausgeglühten Platinöse so viel pulverisiertes Natron bicarbon. zugesetzt, bis die Flüssigkeit rotes Lackmuspapier schwach bläute. Die Versuche mit Pankreas resp. Leber geschahen in derselben Weise. Pankreas- resp. Leberpulver wurden stets nur denjenigen Muskelpräparaten zugefügt, die aus dem gleichen Tiere stammten. Sämtliche geschlossenen Gefäße wurden mit Ausnahme der Kontrollgefäße in den Brutschrank gebracht, nach ca. 14 Stunden entfernt und weiter verarbeitet. Wir haben die Zeit von 14 Stunden deshalb gewählt, weil wir vermuteten, daß die maximale Wirkung der Muskulatur auf die Lösung innerhalb einer relativ kurzen Zeit stattfinden sollte.

Gleich nach der Entfernung aus dem Brutschrank wurden die Flüssigkeiten enteiweißt. Die Enteiweißung geschah nach dem Ritthausenschen Verfahren.[1]) Der Zucker wurde nach Allihn (modifiziert) bestimmt.

Diese Methode ist nach unseren Erfahrungen eine sehr zuverlässige. Für unsere Untersuchungen können wir auf Kosten der Methode einen Versuchsfehler von Max. $\pm$ 5 mg Zucker annehmen. Eine weitere Fehlerquelle liegt aber wahrscheinlich in der Gegenwart von Muskelpulver. Für die Kontrollen glaubten wir anfänglich, ohne einen merklichen Zuckerverlust befürchten

[1]) Biochem. Arbeitmethoden 5, 447.

zu müssen, die Gefäße $^1/_2$ bis 1 Stunde nach dem Einfüllen der Lösungen stehen lassen zu können. Während dieser Zeit ordnete man oder arbeitete man im Laboratorium. Wir waren

Tabelle I.

Kaninchen	Versuch Nr.	Zugesetztes Organpulver	Zugesetzte Salze	Zuckerverlust nach $^1/_2$ bis 1 Std.	Zuckerverlust nach 14 Std.	Zuckerverlust nach 24 Std.	Zuckerverlust absolut	Zuckerverlust der Zufuhr %
A	1	2,2 g Muskel	Natr. bic. (alk.)	—	0,184	—	0,016	8
	2	2,3 g „	—	—	0,174	—	0,026	13
	3	2,2 g „ + 5 gtt. Adrenalin 1‰	—	—	0,182	—	0,018	9
	4	2,4 g Muskel, gekocht, Kontr. .	—	0,212	—	—	—	—
	5	2,4 g „ Kontr.	—	0,190	—	—	0,010	5
B	6	2,05 g „ „	20 ccm Ringer[1])	0,153	—	—	0,047	23
	7	2,0 g „ „	20 ccm Ringer + Natr. bic.	0,159	—	—	0,041	20
	8	2,1 g „	20 ccm Ringer	—	0,127	—	0,073	35
	9	2,02 g „	20 ccm Ringer + Natr. bic.	—	0,092	—	0,108	54
	10	2,06 g „ + 0,51 g Pankreas	20 ccm Ringer	—	0,097	—	0,103	51
	11	2,1 g „ + 0,5 g Pankreas + 0,5 g Leber	idem		0,103	—	0,097	49
	12	0,49 g Pankreas	idem		0,157	—	0,043	21
C	13	2,0 g Muskel, Kontr.	idem	0,179	—	—	0,021	11
	14	2,2 g „	idem	—	0,167	—	0,033	16
	15	1,8 g „	20 ccm Ringer + Natr. bic.	—	0,135	—	0,065	33
	16	2,6 g „ + 0,5 g Pankreas .	idem	—	0,130		0,070	35
	17	2,0 g „ + 0,5 g Pankreas + 0,5 g Leber	idem	—	0,136	—	0,064	32
	18	2,0 g Muskel + 0,05 g Nebenniere	idem	—	0,143	—	0,057	28
D	19	1,7 g „ erwärmt, Kontr. .	idem	0,175	—	—	0,025	12
	20	2,05 g „	idem	—	0,146	—	0,054	27
	21	2,5 g „	idem		0,125	—	0,075	37
	22	1,8 g „ + 0,38 g Pankreas .	idem		0,121	—	0,079	39
	23	2,12 g „ + 0,52 g Pankreas .	idem		0,111	—	0,089	44
	24	2,2 g „ + 0,5 g Leber . .	idem	—	0,129	—	0,071	35
	25	2,1 g „ + 0,5 g Pankreas + 0,5 g Leber	idem	—	0,097	—	0,103	50
E	26	2,0 g Muskel	20 ccm Ringer + Natr. bic.	0,180	—	—	0,020	10
	27	2,0 g „	idem	—	—	0,032	0,168	84
	28	2,0 g „	idem	—	—	0,029	0,171	85
	29	2,0 g „	(kein Ringer)	0,188	—	—	0,012	6
	30	2,0 g „	—	—	—	0,154	0,046	23
	31	2,0 g „	Natr. bic.	—	—	0,101	0,099	50
	32	2,0 g „	20 ccm Ringer + Natr. bic.	sofort 0,189	—	—	0,011	5,5

[1]) Die Ringerlösung hatte folgende Zusammensetzung: 0,9% NaCl, 0,024% $CaCl_2$, 0,042% KCl, 0,02 g-% Natron bicarbon.

daher nicht wenig überrascht, in diesen auf diese Weise angestellten Kontrollversuchen einen Zuckerverlust nachzuweisen, der außerhalb der Versuchsfehler lag (z. B. Versuche 6, 7). Um sichere Kontrollen zu erhalten, haben wir dann in Versuch 32 sofort, d. h. 1 bis 2 Minuten nach dem Muskelzusatz, in der Flüssigkeit die Enteiweißung vorgenommen. In Versuch 4 wurde das gefrorene Muskelpulver, bevor es in die Lösung gebracht wurde, auf dem Wasserbade ca. 1 Stunde erhitzt. Wir glauben aus unseren Versuchen den Schluß ziehen zu dürfen, daß je nach dem biologischen oder chemischen Zustande der verwendeten Muskulatur für die Zuckerbestimmung eine weitere Fehlerquelle entsteht; letztere dürfte zusammen mit der oben erwähnten Genauigkeitsgrenze der Bestimmung für unsere Zahlen ca. 10 mg (gleich 5% des zugefügten Zuckers) betragen. Um unsere Resultate als sicher aufstellen zu können, haben wir als maximale Fehlerquelle einen Zuckerverlust von 20 mg gleich 10% angenommen. D. h. in den Versuchen, in denen der absolute Zuckerverlust weniger als 20 mg beträgt, hat eine Glykolyse nicht stattgefunden, resp. ist eine solche nicht mit Sicherheit anzunehmen.

Die Versuche 6 und 7 sprechen daher mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß das Muskelpulver schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde eine unter Umständen beträchtliche Menge Zucker zu zerstören vermag. Bei analogen Versuchen mit anderen Kaninchen fielen die Zuckerverluste geringer aus.

Die Zahlen der 14 und 24 stündigen Versuche stimmen auffallend gut untereinander überein. Sie stellen einen sicheren Beweis dar, daß die Muskulatur allein, d. h. ohne Pankreas- oder Leberpulver, Traubenzucker zu zerstören imstande ist. Nach 14 Stunden können rund 0,1 g, d. h. 50% der zugesetzten Zuckermenge, nach 24 Stunden 0,17 g, d. h. 85% (2 gut übereinstimmende Versuche 27 und 28) zerstört werden. Die glykolytische Fähigkeit von 100 g Muskulatur würde nach diesen Zahlen, in 14 Stunden 5 g, in 24 Stunden 8 bis 9 g Zucker zum Verschwinden bringen können. Bei Cohnheim betrug die maximale Wirkung (unter rund 100 Versuchen einmal) pro 100 g Muskulatur 0,5 g Zucker in ca. 20 Stunden.

Die Glykolyse in der Muskulatur ist offenbar an die An-

wesenheit von Salzen gebunden. Zusatz von Ringerlösung begünstigt in hohem Grade die Glykolyse. Dies geht überzeugend aus der Tabelle hervor. Ein weiterer Zusatz von Natron bicarbon. bis zur leicht alkalischen Reaktion befördert noch weiter den Prozeß, z. B. bei Ringer allein Zuckerverlust 35%, bei Ringer + Natron 54% (Versuch 8, 9), bei Ringer allein 16%, bei Ringer + Natron 33%.

Zusätze von Pankreas, Leber, Nebennieren scheinen dagegen keinen deutlichen Einfluß zu besitzen (Tabelle II).

Tabelle II.

Zuckerverlust der Zufuhr.

Kaninchen	Muskel allein %	Muskel + Pankreas %	Muskel + Leber %	Muskel + Leber + Pankreas %	Muskel + Nebennieren %
C	33	35	—	32	28
D	37	{39 / 44	35	50	—

Dieses letztere Ergebnis beweist natürlich nicht, daß die Pankreassekretion für die Zuckerverbrennung im Muskel nicht nötig sei. Die hier publizierten Versuche sind nur mit gesunden Tieren ausgeführt worden. Im normalen Tiere ist aber wahrscheinlich zu jeder Zeit in der Muskulatur genügend Pankreassekret vorhanden, um die Glykolyse auslösen zu können.

Es ist überflüssig, hier die Diskussion aufzuwerfen, welche Momente in den Untersuchungen Cohnheims und Embdens störend eingewirkt haben. Die Versuchsanordnung dieser Autoren wich bedeutend von der unserigen ab. Sie arbeiteten nicht aseptisch, auch nicht vollkommen antiseptisch, verwendeten Preßsäfte usw. Ein Vergleich der verschiedenen Versuchsanordnungen läßt klar hervortreten, daß wir günstigere Bedingungen gewählt haben. Die gute Übereinstimmung der Parallelversuche läßt keinen Zweifel darüber, daß wir mit unserer Methodik eine grobe Störung durch Bakterieneinwirkung genügend ausgeschaltet haben. Die minimale Bakterienverunreinigung, die bei jeder aseptischen Operation vorkommt, kann unmöglich, wie wir uns überzeugen konnten, die großen Zuckerverluste bedingt haben.

Stoff- und Energieumsatz des Schweines bei Wachstum und Mast.

(Vorläufige Mitteilung.)

Gemeinschaftlich bearbeitet von

R. von der Heide und **W. Klein.**

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Bis jetzt lagen neben vielen praktischen Fütterungsversuchen Arbeiten über den Gaswechsel des Schweines von Reiset, sowie über den Stoff- und Gaswechsel unter Benutzung des Pettenkoferschen Apparates von Meißl und Stohmer vor. Über den respiratorischen Gaswechsel erschienen während unserer Versuche von Tangl „Untersuchungen am hungernden Schwein", die zu unserer Arbeit keineswegs in konkurrierender, vielmehr in ergänzender Stellung stehen. In diesen Versuchen wurde nur die Kohlensäure bestimmt, während wir zum erstenmal nach Reiset auch die Sauerstoffaufnahme an Schweinen sowie die Ausscheidung brennbarer Gase bestimmten. Unsere Aufgabe galt dem Stoffwechsel an drei wachsenden Schweinen bei Erhaltungs- und Mastfutter.

Die Anordnung der Versuche war folgende: Zu einem Grundfutter, bestehend aus Gerstenschrot und Trockenkartoffeln mit einer Proteinzulage in Form von Trockenhefe, legten wir als Mastfutter in zwei weiteren Stoffwechseluntersuchungen die zwei Typen Fett und Kohlenhydrate hinzu. Das Fett wurde in Form von reinem Pflanzenfett (Palmin) gereicht, während in isodynamischer Menge Kohlenhydrate in Form von Trockenkartoffeln verfüttert wurden. Diese beiden einfachen Nähr-

stoffe sollten uns ein klares Bild über Ausnutzung, Umsetzung, Verdauungs- und Assimilationsarbeit geben.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich einerseits auf die Nährstoffe und Ausscheidungen, andererseits auf den respiratorischen Gaswechsel, ein besonderes Gewicht legten wir noch auf die ausgeschiedenen brennbaren Gase Methan und Wasserstoff.

Modifiziert wurden die Respirationsversuche durch Variationen der Temperatur, um deren Einfluß auf den Gaswechsel bei Erhaltungsfütterung und bei Mastfutter zu studieren, zweitens durch Zerlegung jedes 24stündigen Versuches in einen sog. Verdauungs- oder Tages- und in einen sog. Nüchtern- oder Nachtversuch. Dieser letztere erstreckte sich auf die letzten 8 bis 9 Stunden eines ganztägigen Versuchs und begann 7 Stunden nach der letzten Fütterung. Die Trennung geschah, um über die Stoffwechselsteigerung im Gefolge der Verdauung Aufschluß zu bekommen.

Die Tiere, 3 Weibchen eines Wurfes, an denen der eine von uns in Gemeinschaft mit Dr. Fürst v. Dschandjeri, Petersburg, gleich nach dem Absetzen im Sommer 1912 schon eine Anzahl Stoffwechsel- und Respirationsversuche, über die später berichtet werden soll, ausgeführt hatte, waren zu Beginn der Versuche 8 Monate alt und wogen am 15. Februar 1913 87,7, 75,2 und 65,2 kg. Sie bekamen im Monat Dezember und Januar den Erhaltungsbedarf gedeckt durch Gerstenschrot, Grünfutter und Küchenabfälle als Vorbereitung zur Mast, von den gleichen Gesichtspunkten geleitet, die Lehmann erst am 19. Februar 1913 im Verein für Schweinezüchter in seinem Vortrag aussprach und damals als „Vormast“ oder „Bauchweitung“ bezeichnete. Erwähnen wollen wir hier, daß das Schwein Nr. 2 vor Weihnachten leichte rachitische Erscheinungen an den Gelenken der Hinterläufe zeigte, während das Schwein Nr. 3 zur selben Zeit so stark rachitisch war, daß wir es bereits schlachten wollten[1]). Die Erscheinungen traten auf, trotzdem die Tiere während der ganzen Zeit je 5 g Futterkalk erhielten. Durch die mehr als

[1]) Die Gelenke der Vorder- und Hinterläufe waren stark geschwollen, gerötet und auf Druck schmerzempfindlich; das Tier konnte kaum laufen, war vollständig steif, das Sensorium stark benommen; die Freßlust war erheblich vermindert, und außerdem zeigte das Tier häufig Fiebererscheinungen (bis 41,3°).

dreifache Menge der Nährsalze, die vom 25. Januar ab gereicht wurde, waren zu Beginn unserer Versuche die Krankheitserscheinungen verschwunden, nur behielt das Schwein Nr. 3 ein etwas struppiges Haarkleid.

Vor Beginn der Versuche kam je ein Tier in eine Stoffwechselbucht. Die Buchten sind im Geviert 1,5 m breit und 1,5 m tief. Der Boden der Bucht, 25 cm über dem Stallboden gelegen, besteht aus undurchlässigem Zement, die Hinterwand verkleidet mit abwaschbaren glasierten Tonkacheln, die Seitenwände aus dickwandigem Stahlblech. Der Gewohnheit der Tiere entsprechend, Harn und Kot immer in dieselbe Ecke zu entleeren, befindet sich im hinteren Teil der Bucht ein den Zementboden durchsetzendes Loch im Durchmesser von 3 cm. Gegen dieses Abflußloch für Harn ist der Buchtenboden leicht geneigt. Der Harn fließt in einen unter das Loch schiebbaren Blechkasten. Der Kot wurde von der Stallwache sofort nach der Entleerung in ein luftdicht schließendes Glaßgefäß gebracht, in das zur Konservierung Chloroform gegeben wurde.

Der Buchtenboden wurde nach jeder Kot- und Harnentleerung mit feuchten Tüchern aufgewischt, die Lappen ausgewaschen und zu Buchtenspülwasser gesammelt zur späteren Analyse. Um zu vermeiden, daß die Tiere in kalten Nächten auf dem Zementboden gesundheitlich geschädigt wurden, befanden sich in den Buchten aufklappbare, der Körpergröße der Tiere knapp angepaßte Bretter, die unten zwei schmale Eisenschienen trugen, das Ende der Bretter war außerdem mit Weißblech beschlagen, so daß auch hier nichts von dem ev. darauf abgesetzten Kot und Harn verloren gehen konnte. Die Tiere suchten diese Vorrichtung gern als Liegeplatz auf und waren auch die ganzen Versuche hindurch gesund und munter. Die Versuchsanordnung der Respirationsversuche zeigt Fig. 1. Auf der Bodenfläche der Tretbahn in der Respirationskammer wurden drei gleichgroße Buchten eingerichtet, die oberhalb mit starkem Stacheldraht umwickelt waren, weil die jungen Tiere des öfteren Wandergelüste zeigten, und auch ständig die Futterbehälter herunterzureißen suchten. Die Futterbehälter waren zylindrische Blechbüchsen, dazu gehörten je zwei Drahtgabeln und je zwei Blechscheiben. Die Gabeln, die die Büchsen unten und in der Mitte durchsetzten, konnten von außen mit Hilfe von Rollen-

übertragung herausgezogen werden, so daß das auf den Blechscheiben ruhende Futter in die darunter angebrachten Futtertröge fiel. Auf diese Weise verabreichten wir Mittag- und Abendfutter. Wie jedes Tier einzeln getränkt wurde, ergibt sich aus der Zeichnung.

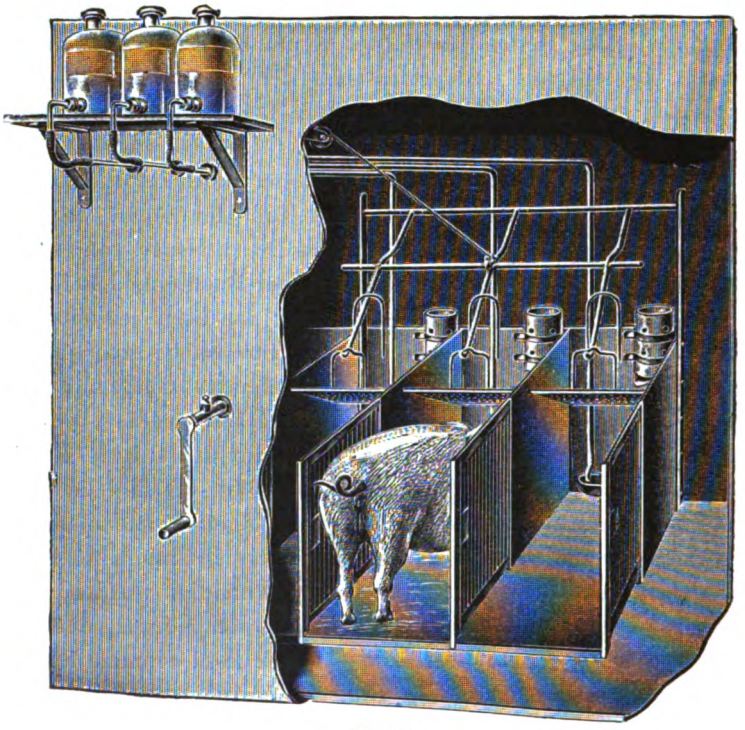


Fig. 1.

1. Periode.

Das Grundfutter bestand aus Schrot und Trockenkartoffeln, deren Eiweißgehalt durch Zugabe von Trockenhefe erhöht wurde. Die Bedeutung der Hefe als Eiweißträger schien uns durch die Versuche von Völtz und seinen Mitarbeitern[1]) hinreichend geklärt. Im Hinblick auf die erwähnte Futterzusammensetzung Gerstenschrot, Kartoffeln und Hefe ist es bei der Armut dieser Futtermittel an Mineralsalzen nötig, auf die Wichtigkeit der

[1]) Völtz, Pächtner, Baudrexel, Über die Verwertung der Trockenhefe durch die landwirtschaftlichen Nutztiere. Landwirtsch. Jahrbücher, Berlin 1912.

Salzzulage bei wachsenden Schweinen klar hinzuweisen; denn im allgemeinen wird immer noch zu wenig Futterkalk in der Praxis verabreicht. In einer späteren Publikation werden wir noch ausführlich begründen, welche Überlegung uns dazu geführt hat, der täglichen Nahrung jedes Tieres 20 g Calciumcarbonat und 5 g Kochsalz hinzuzufügen.

Das Futterregime der 1. Periode setzte sich aus folgenden Mengen zusammen:

	Große Sau Nr. 1	Mittlere Sau Nr. 2	Kleine Sau Nr. 3
Schrot	300	268	238
Kartoffeln . . .	500	447	403
Hefe	160	143	129

Die Einfuhr betrug:

	Große Sau Nr. 1	Mittlere Sau Nr. 2	Kleine Sau Nr. 3	Summe
Eiweiß	138,50	122,80	108,80	370,10
Fett	9,46	8,45	7,57	25,48
Kohlenhydrat exkl. Rohfaser	619,84	555,04	507,98	1682,86
Rohfaser	18,56	16,59	14,81	49,96
Asche + 20 g Futterkalk	62,07	57,58	53,82	2128,44

In dieser Periode sollte nur Erhaltungsfutter gereicht werden. Zu seiner Berechnung dienten uns die Angaben von Kellner in seiner „Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere“ über die Verdaulichkeit der in Frage kommenden Futterstoffe. Ferner stützten wir uns auf die Erfahrungen von Zuntz[1]) über den Nährstoffbedarf wachsender Schweine. Das Ergebnis der Versuche wird zeigen, daß der berechnete Bedarf beinahe der Wirklichkeit entsprach. Die drei Tiere haben zusammen 2128,4 g organische Substanz aufgenommen und im Kot 247 g organische Substanz ausgeschieden, also 1881 g resorbiert. Davon wurden **142,5** g Protein angesetzt, so daß 1738,5 g organische Substanz für den Umsatz verblieben. Da im Harn 25,4 g N_2 vorhanden waren, beteiligte sich das Eiweiß am Umsatz mit **158,7** g, also die N_2-freien Stoffe mit 1579,8 g. Da-

[1]) Zuntz, Ostertag, Striegel und Hempel, Untersuchung über die Milchsekretion des Schweines und die Ernährung der Ferkel. Landw. Jahrb., Berlin 1908.

von geht noch ab der Verlust an brennbaren Gasen, der im dritten Respirationsversuch dieser Reihe zu 13,5 l Methan und 19,04 l Wasserstoff für 24 Stunden ermittelt wurde. Wir wollen gleich das Äquivalent dieser Gase an Sauerstoff und CO_2 ansetzen. Wir kommen dann zu folgender Bilanz. Die zur Verfügung stehenden 1579,8 g N-freie Substanz bestehen ausschließlich aus Kohlenhydraten, da die Fettmenge in der Nahrung (25 g) und im Kot (30 g) fast identisch war. Da 1 g Kohlenhydrat vom Charakter der Stärke 0,828 l O_2 und ebensoviel CO_2 liefert, da ferner aus Eiweißzerfall[1]) pro Gramm im Harn ausgeschiedenen Stickstoff ein Verbrauch von 5,923 l O_2 und 4,754 l CO_2 resultiert, berechnet sich aus der Verbrennung der zur Verfügung stehenden Nahrung folgender Gaswechsel:

$1580 \times 0{,}828$	1310,0 l O_2	und	1310,0 l CO_2
Für 25,4 g N im Harn aus Eiweiß	149,9 l O_2	„	121,2 l CO_2
	1459,9 l O_2		1431,2 l CO_2
In Form brennbarer Gase gingen verloren 13,5 l Methan u. 19,0 l Wasserstoff, die entsprechen .	36,5 l O_2	„	13,5 l CO_2
Es bleiben für die Verbrennungsprozesse	1423,4 l O_2	„	1417,7 l CO_2

Die Respirationsversuche, die jedesmal 24 Stunden dauerten, und während deren die Fütterung genau dieselbe war wie in den Zwischenzeiten, ergaben einen Sauerstoffverbrauch von

bei 10^0:	1778,8 l	und eine CO_2-Produktion von:	1744,4 l
19^0:	1588,6 l	„ „ „	„ 1595,3 l
22^0:	1400,5 l	„ „ „	„ 1405,4 l

Bei der höchsten von uns gewählten Temperatur war also in der Tat das gereichte Futter zur Deckung ausreichend. Schon bei 19^0 bedingte das Wärmebedürfnis gegenüber der Zufuhr einen Mehrverbrauch von 165,2 l O_2 resp. 177,6 l CO_2. Bei 10^0 betrug dieser Mehrverbrauch 355,4 l O_2 und 326,7 l CO_2. Rechnen wir diese Zahlen in ihre Äquivalente an Stärke um, so finden wir, daß zu dem bei 22^0 ausreichenden Erhaltungs-

[1]) Wir rechnen vorläufig für Abfall an Harn die bei Mensch und Hund ermittelten Zahlen und werden später die exakten Daten für das Schwein geben.

futter eine Zulage von $\frac{341}{0{,}828} = 412$ g Stärke, resp. unter Einrechnung von 10% Verdauungsarbeit: 453 g Stärke nötig wäre. Wir haben diese Berechnung unter Mittlung von O_2 und CO_2 ausgeführt, weil so die unvermeidlichen Versuchsfehler auf den kleinsten Wert zurückgeführt werden.

Von Interesse ist noch, die ungefähre Größe der Verdauungsarbeit zu bestimmen. Genau läßt sich diese Größe aus unsern Versuchen deshalb nicht ableiten, weil wohl sicher in 7 Stunden nach der letzten Mahlzeit ein genügender Zustand der Nüchternheit noch nicht erreicht ist. Wenn wir dies vorläufig aber annehmen, können wir aus dem bei 22° angestellten Nachtversuch entnehmen, daß 505,1 l O_2 und 488,4 l CO_2 geatmet wurden. Das macht pro Stunde 54,12 l O_2 und 52,33 l CO_2. Der Bedarf würde also in den 880 Minuten der Verdauungszeit sein: 793,4 l O_2 und 767,2 l CO_2.

Faktisch war dieser Bedarf 895,4 l O_2 und 917 l CO_2, die Verdauung hat also eine Steigerung bedingt um 102 l O_2 und 150 l CO_2.

Diese gefundene Steigerung können wir vergleichen mit derjenigen, die wir zu erwarten hätten unter der Annahme, daß, wie bei Mensch und Hund, jedes Gramm Eiweiß eine Verdauungsarbeit von 0,8 Cal und jedes Gramm Kohlenhydrat von 0,4, jedes Gramm verfütterter Rohfaser 2,6, jedes Gramm Fett von 0,24 bedingt.

Wenn wir so die Verdauungsarbeit berechnen, erhalten wir für 301,2 g verdautes Protein à 0,8 Cal gleich 240,9 Cal. Für 1590 g Kohlenhydrat à 0,4 Cal gleich 612 Cal. 50 g Rohfaser à 2,6 Cal gleich 130 Cal, also im ganzen 983 Cal, die bei der Verbrennung von Kohlenhydrat gedeckt werden von $\frac{983}{5{,}05}$ gleich 194,5 l O_2.

Da der faktische Mehrverbrauch an Sauerstoff in der Verdauungsperiode 102 l O_2 beträgt, ist es wahrscheinlich, daß unsere Nüchternperiode noch einen durch Verdauungsarbeit erhöhten Bedarf an Sauerstoff aufwies.

Diese Annahme läßt sich prüfen mit Hilfe der Befunde von Tangl[1]): „Über den Energiebedarf des hungernden Schweines".

[1]) Tangl, diese Zeitschr. 44, 252.

Tangl hat den N_2-Umsatz und die CO_2-Ausscheidung gemessen und daraus den Energieverbrauch berechnet. Durch Variation der Versuchstemperatur bestimmt er als die kritische Temperatur, unterhalb deren die chemische Wärmeregulation einsetzt, in guter Übereinstimmung mit unseren Resultaten 20 bis 23°. Seine Versuche sind an Ferkeln von 45 bis 52 kg und an vollwüchsigen Schweinen im Gewicht von 112 bis 128 kg ausgeführt. Bei Reduktion auf die Oberfläche ergeben beide Gruppen:

kleine Schweine	bei 23°:	845 Cal pro 1 qm und Tag
	„ 26°:	1146 „
große Schweine	„ 22°:	1142 „
	„ 16°:	962 „
	im Mittel	1024 Cal pro 1 qm und Tag.

Tangls Versuche zeigen, daß der sehr wechselnde Grad von Muskeltätigkeit erhebliche Schwankungen bedingt.

Der Verbrauch pro 1 kg beträgt bei den erwachsenen und gemästeten Tieren, die mit den unsrigen ohne weiteres vergleichbar sind, 19,6 Cal.

Wenn wir aber den Verbrauch unserer Schweine mit dem von Tangl benutzten Faktor 9,02 auf die Oberfläche umrechnen, bekommen wir für die Nüchternperiode folgenden Wert:

Der 24stündige Erhaltungsumsatz pro 1 qm beträgt	1433,5	Cal
nach Tangl ist der Hungerumsatz	1024	„
mithin bleiben für die Verdauungsarbeit	409,5	Cal
und für die Gesamtoberfläche (4,916 qm) der drei Tiere	2013	Cal
Da sich die tägliche Verdauungsarbeit zu . . .	983	„
berechnet, so sind also	1030	Cal

mehr verbraucht als dem Hungerumsatz plus Verdauungsarbeit entspricht.

Wenn wir unsere sog. „Nüchternperiode“ mit Tangls Hungerversuch in Parallele stellen, ergibt sich:

Unsere Tiere atmeten in 560 Min. 505,1 l O_2 und 488,4 l CO_2,
d. h. in 24 Stunden . . . . . 1298,5 l O_2 „ 1256,5 l CO_2.
Pro 1 kg Schwein wurde geatmet 5,58 l O_2 „ 5,40 l CO_2,
pro 1 qm Schwein wurde geatmet 260,0 l O_2 „ 255,7 l CO_2.

Tangl findet bei 22° pro 1 kg 2,75 l CO_2 (Gew. d. Tieres 115 kg)
3,12 l CO_2 („ „ „ 127 „)
pro 1 qm 149 l CO_2
174 l CO_2

Der Brennwert der resorbierten Nahrung beträgt:

1580 g Kohlenhydrat (inkl. Rohfaser) à 4,19 Cal	= 6620,0 Cal
301,2 g resorbiertes Protein à 5,7 Cal	= 1715,0 „
	8335,0 Cal
Davon geht ab: 25,4 g N_2 im Harn à 7 Cal	= 177,8 „
	8157,2 Cal

Ferner sind die brennbaren Gase in Abzug zu bringen:

19,04 l Methan . à 9,524 Cal	= 128,5	
13,5 l Wasserstoff à 3,070 „	= 58,5	
	187,0	
		187,0 Cal
		7970,2 Cal
Angesetzt wurden 142,5 g Protein à 5,7 Cal . .		= 812,0 „
		7158,2 Cal

standen aus der Nahrung zur Verfügung bei einem Lebendgewicht von 232,8 kg, das macht pro 1 kg 30,74 Cal.

Da die Oberfläche der drei Schweine 4,9163 qm beträgt, so verfügt 1 qm Tier über 1455,5 Cal.

Diesem Energiewert der Nahrung entsprechen nach S. 200

	1423,4 l O_2 und	1417,7 l CO_2
faktisch geatmet wurde	1400,5 l O_2 „	1405,4 l CO_2
also waren erspart, resp. angesetzt	22,9 l O_2 und	12,3 l CO_2

Bei dem niedrigen Respirationsquotienten des Ersparten, dessen Wert ganz in die Versuchsfehler fällt, wollen wir dieses Ersparte als Fett rechnen, d. h. 1 l O_2 = 4,8 Cal, also 22,9 l O_2 gleich 110 Cal, daher ein faktischer Verbrauch von

$$7158{,}5 - 110 = 7048{,}5 \text{ Cal.}$$

Da die Oberfläche 4,916 qm groß ist, so kommt auf 1 qm:

$$\frac{7048{,}5}{4{,}916} = 1433 \text{ Cal.}$$

Tangl fand bei langem Hunger und Temperaturen zwischen 20 und 23° 845 bis 1142 Cal, im Mittel 1024.

Es kann also nicht bezweifelt werden, daß in den acht letzten Stunden (7 Stunden nach der Mahlzeit) der Stoffwechsel noch erheblich höher ist als im Hunger.

Zu demselben Resultat wie nach der vorstehenden Berechnung führt die direkte Betrachtung der respiratorischen Daten:

Saucrstoffverbrauch: 1400,5 l CO_2-Bildg.: 1405,4 l

Der Stickstoff im Harn braucht pro 1 g: 5,923 l O_2 und liefert 4,754 l CO_2, also ergeben 25,4 g N_2	150,1	121,2
mithin für N_2-freie Stoffe . .	1250,4 l O_2 und	1284,2 l CO_2

Wie aus der vorstehenden Vergleichung der verdauten Nahrung mit dem Gaswechsel hervorgeht, haben die Kohlenhydrate der Nahrung bei der Stalltemperatur von 21 bis 23° reichlich zur Deckung des Bedarfs ausgereicht, es hat noch ein nahe der Fehlergrenze liegender Ansatz von Fett stattgefunden, der es zusammen mit der Bildung brennbarer Gase erklärt, daß der respiratorische Quotient 1,026 die Einheit etwas überschreitet. Wir werden wohl der wahren Wärmeproduktion nahekommen, wenn wir mit dem Mittel aus O_2 und CO_2 auf Oxydation von Kohlenhydraten rechnen: 1267 l O_2. 1 l O_2 hat bei dem R. Q. = 1 den Wärmewert 5,058, also 1267 l = 6408 Cal.

Dazu kommt der Wärmewert des umgesetzten Proteins 158,7 à 4,2	= 668
	7076 Cal.

Interessant ist übrigens, daß, obgleich das Erhaltungsfutter bei der höchsten (21 bis 22°), meist im Stalle nicht herrschenden Temperatur den Bedarf deckte, doch bei jungen wachsenden Tieren die Wachstumstendenz sich äußert in einer stärkeren „Neigung zur Zurückhaltung von Eiweiß"; hier also eine Bestätigung früherer Erfahrungen.

2. Periode.

Der Stoffwechsel bei der Zufuhr überschüssigen Fettes in Form von Palmin gestaltet sich folgendermaßen: In der Nahrung waren aufgenommen:

1. dasselbe Grundfutter wie in Periode I, also Schrot, Trockenkartoffeln und Hefe (vgl. S. 199)
und außerdem bei Schwein 1 500 g Fett,
" " 2 456 " "
" " 3 417 " "
1373 g Fett.

Die Vergleichung von Harn und Kot ergibt, daß an Protein von den 3 Schweinen zusammen verdaut wurden 306,8 g; die 3 Tiere setzten 144 g Eiweiß an. Umgesetzt wurde, wie die Ausscheidung von 26,04 g N im Harn ergab, 162,8 g Protein. Es hat also das Fett keine Eiweißersparnis bewirkt. Diese 162,8 g umgesetzten Proteins entsprechen einem Sauerstoffverbrauch von 151,8 l, einer Kohlensäureausscheidung von 121,8 l. Wenn wir nun weiter nach dem üblichen von Voit herrührenden Schema mit der Annahme rechnen, daß die Kohlenhydrate vor den Fetten verbrannt werden, hätten wir zunächst die zur Verfügung stehenden Kohlenhydratmengen aus der Aufnahme und den Ausscheidungen im Kot sowie in Form brennbarer Gase zu berechnen. Diese Rechnung gestaltet sich wie folgt:

Das Grundfutter enthielt im ganzen 2128,4 g organische Substanz, darin 25,5 g Fett, 370,1 g Protein, 50 g Rohfaser, so daß 1682,9 g Kohlenhydrate der Nahrung in Betracht kommen. Davon geht ab der Kohlenhydratgehalt des Kotes von 116,3 g, so daß: 1682,9 g
116,3 "
1566,6 g

Kohlenhydrate für den Stoffwechsel zur Verfügung bleiben. Da 1 g Stärke bei Oxydation 0,828 l Sauerstoff verbraucht und ebensoviel Kohlensäure liefert, wären zur vollständigen Verbrennung dieser Kohlenhydratmenge 1297,1 l O_2 und 1297,1 l CO_2 erforderlich.

Nun ist aber ein Quantum dieser Kohlenhydrate durch die Gärungsprozesse im Dickdarm zersetzt worden. Im Mittel der beiden Respirationsversuche wurden 14,15 l CH_4 und 11,88 l H_2 gefunden. Diese fast vollständige Gleichheit der brennbaren Gase bei Erhaltungsfutter und der reichlichen Fettzulage entspricht der allgemein gültigen, am schärfsten von Kellner formulierten Lehre, daß die Fette keinen merklichen Einfluß auf die Gärungsprozesse im Darmkanal haben. Ob übrigens

so große Fettmengen auch beim Wiederkäuer indifferent wären, ist damit freilich nicht gesagt. Jedenfalls ist beim Schwein alles Fett resorbiert, ehe die Gährungsprozesse einsetzen. Nach dem früher Gesagten entsprechen diese 14,15 l Methan 28,3 l O_2 und 14,15 l CO_2, die 11,8 l H_2 = 5,9 l O_2, so daß von dem zur Verfügung stehenden Material abgehen: 14,15 l CO_2 und 34,2 l O_2.

Es bleiben demnach zur Verfügung aus den Kohlenhydraten 1263 l O_2 und 1283 l CO_2.

Außerdem standen aus Protein zur Verfügung 151,8 l O_2 und 121,8 l CO_2, aus beiden Substanzen also 1414,8 l O_2 und 1404,8 l CO_2. Im Mittel der beiden Respirationsversuche betrug der O_2-Verbrauch 1992 l, die CO_2-Produktion 1855 l. Es müssen also 578 l O_2 und 441 l CO_2 durch Verbrennung von Fett geliefert sein. Nun verbrennt 1 l O_2 0,503 g Fett, und zur Entstehung von 1 l CO_2 sind 0,706 g Fett erforderlich. Es würde sich demgemäß aus dem Sauerstoffverbrauch die verbrannte Fettmenge auf 306,3 g, aus der CO_2-Ausscheidung auf 311,1 g berechnen. Im Mittel beider Bestimmungen hätten die Tiere zur Bestreitung ihres Stoffwechsels 308,7 g Fett verbrannt. Aus der Nahrung standen an verdauten Fetten zur Verfügung 1301 g pro Tag. Es waren also 1301 — 308,7 = 992,3 g Fett zum Ansatz gekommen. Außerdem haben die Tiere, wie die N-Bilanz ergab, 144,0 g Protein angesetzt.

Wir können aber auch, an Stelle dieser etwas schematischen noch von Voit herrührenden Rechnung, versuchen, die wirkliche Verbrennung von Kohlenhydraten und Fett aus dem Verhältnis des verbrauchten Sauerstoffs zur gebildeten Kohlensäure zu berechnen. Zu diesem Behufe ziehen wir von den geatmeten 1992,2 l O_2 und 1855,3 l CO_2 den Anteil des umgesetzten Proteins ab: 151,8 l O_2 und 121,8 l CO_2. Es bleiben dann für die Verbrennung der N-freien Stoffe 1840,4 l O_2 und 1733,5 l CO_2. Wenn wir annehmen, daß diese sich auf vollständig verbrennende Kohlenhydrate und Fette verteilen, können wir die Menge dieser beiden Produkte nach der in Zuntz-Loewy, Lehrbuch der Physiologie, 2. Aufl., S. 645, gegebenen Formel berechnen. Diese Rechnung ergibt, daß der Gaswechsel bestritten wurde durch 187,5 g Fett und 1772 g Kohlenhydrat.

Um die Steigerung des Calorienumsatzes gegenüber dem Erhaltungsumsatz zu bestimmen, berechnet man zunächst den Brennwert der resorbierten Nährstoffe. Es beträgt:

	Kohlenhydrat (+ Rohfaser)	Fett	Protein
die Einfuhr	1732,8 g	1397,5 g	370,1 g
die Ausfuhr hingegen	166,3 g	57,1 g	63,3 g
so wurden verdaut	1566,5 g	1340,4 g	306,8 g

Diese resorbierten Nährstoffe liefern:

Kohlenhydrate à 4,19 Cal	=	6568 Cal
Fett à 9,5 Cal	=	12740 „
Protein à 5,7 Cal	=	1748 „
		21056 Cal

Davon gehen ab:

für 25 g N im Harn	=	182 „
für brennbare Gase 14,3 l CH_4 à 9,524 Cal	=	135 „
„ „ „ 11,9 l H_2 à 3,07 „	=	36 „

der Brennwert des Angesetzten:

992,3 g Fett à 9,5 Cal	=	9428 „
144,0 g Protein à 5,7 Cal	=	821 „
	Es bleiben	10454 Cal,

die demnach umgesetzt sind für eine Gesamtoberfläche von 5,10 qm.

Also beträgt der Umsatz für 1 qm	2050 Cal
Der Erhaltungsumsatz ist in Periode I bestimmt mit	1455 „
mithin für 1 qm eine Steigerung von	595 Cal.

d. h. für die Gesamtoberfläche eine solche von 3034,5 Cal.

Übrigens ergeben die angesetzten Mengen von 992 g Fett und 144 g Protein = 696 g Fleisch einen täglichen Ansatz der drei Schweine von 1688 g; aus der täglichen Gewichtszunahme berechnet sich der Ansatz von 1456 g.

In diesen Versuchen ist natürlich noch weniger als in Periode I anzunehmen, daß 7 Stunden nach der letzten Mahl-

zeit die Verdauung der riesigen Fettmenge vollkommen ist. Im Gegenteil müssen wir auf Grund der Versuche von Magnus-Levy am Hund annehmen, daß die Fettverdauung bis zum Schluß des Respirationsversuchs in ziemlich gleicher Stärke fortdauert. Dieser Annahme entspricht auch die Größe des Gaswechsels in der Nachperiode; sie erreicht im ersten Versuch bei 19,5° 80,0 l O_2 in der Stunde, im zweiten Versuch bei 20,9° 70,62 l O_2.

Der Gedanke, daß die Temperaturdifferenz von 1,4° diesen Unterschied bedingt habe, ist wohl nicht haltbar, wenn wir sehen, daß bei knapper Fütterung nur 67,3 l O_2 bei der soviel niederen Temperatur von 10° verbraucht wurden.

Es spielt also sicher bei diesem Fettversuch die Wärmeregulation keinerlei Rolle mehr, und wir müssen das ganze Plus im Verbrauch gegenüber demjenigen, welchen die Tiere bei Erhaltungsfutter und hoher Temperatur hatten (1405 l O_2) als Wirkung des zugelegten Fettes betrachten.

Es kämen also als diese Wirkung in Betracht im Mittel der beiden 24 stündigen Respirationsversuche:

8,08 l O_2 pro 1 kg Schwein in der Mast oder pro 246,5 kg	1992 l Sauerstoff,
6,11 l O_2 pro 1 kg Schwein beim Erhaltungsfutter oder pro 246,5 kg . .	1506 l „
Mehr bei Fettmast	486 l Sauerstoff.

Wenn wir 1 l Sauerstoff bei den hier obwaltenden respiratorischen Quotienten im Mittel von 0,93 = 4,994 Cal oder rund 5 Cal setzen, würde das Fett einen Mehrumsatz bedingen von 2430 Cal, wovon für die Verdauungsarbeit der resorbierten 1340 g (à 0,25 Cal) = 335 Cal abzuziehen sind; es bleiben als Mehrumsatz 2095 Cal.

1 g der angesetzten Fettmenge in Höhe von 992,3 g bedingt also einen Extraarbeits-Aufwand von $\frac{2095}{992,3} = 2,11$ Cal.

Dieser Extrabedarf an Assimilationsarbeit läßt sich noch auf eine andere Art berechnen, und zwar mit Hilfe der verbrannten bzw. umgesetzten Nährstoffe:

1566,6 g Kohlenhydrat à 4,19 Cal haben einen Brennwert von	6561,5 Cal
die brennbaren Gase 14,15 l Methan und 11,5 l Wasserstoff, die als Verlust in Abzug zu bringen sind	171,0 „
	6390,5 Cal
Dazu kommen 162,8 g umgesetztes Protein à 4,2 Cal	651,0 „
die 308,7 g Fett à 9,5 Cal liefern	2933,0 „
	9974,5 Cal
Der Brennwert der Erhaltungsnahrung beträgt bei 233 kg: 7158 Cal, also in Berücksichtigung des vergrößerten Gewichts von 246,5 kg	7576,0 „
	2398,5 Cal
Die verdaute Fettmenge in Höhe von 1340 g (à 0,25 Cal) erfordert eine Arbeit von . .	335,0 „
	2063,5 Cal

Also pro Gramm Fett der angesetzten Menge von 992,3 g: $\frac{2063,5}{992,3} = 2,08$ Cal.

Die beiden Rechnungen führen also fast zum gleichen Resultat, daß zum Ansatz von Fett pro Gramm 2,1 Cal verbraucht werden.

Das macht 22,1 % der Energie des angesetzten Fettes aus.

Die Menge dieses angesetzten Fettes beträgt 77,9 % des verdauten. Rubner fand beim Hund als Maximalbetrag des Ansatzes 87,3 % der verdauten Menge, Kellner beim Rind indessen nur 64,4 %. Die Ursache dieser großen Differenz, die Kellner auf die Tätigkeit der Darmbakterien bezieht, bedarf wohl noch weiterer Klärung.

Wenn aber der Ansatz von Fett einen Extraaufwand an Energie erfordert, so werden wir dasselbe um so eher von dem Aufbau eiweißhaltigen Gewebes erwarten dürfen, wie ein solcher auch in der Erhaltungsperiode stattfand.

Wir fanden dort (S. 202) den Überschuß des Verbrauchs über

Hungerstoffwechsel	2013 Cal
die Verdauungsarbeit . . .	983 „
	1030 Cal

sind also mehr verbraucht, als dem Hungerstoffwechsel plus Verdauungs-

arbeit entspricht; es sind aber 142 g Protein angesetzt; es liegt demnach nahe, die 1030 Cal als Assimilationsarbeit für das Protein anzusehen, d. h. 1 g Protein-Ansatz verlangt im wachsenden Organismus eine Assimilationsarbeit von 7,25 Cal.

3. Periode.

In der Kohlenhydratperiode haben wir zum Grundfutter ausschließlich Trockenkartoffeln zugesetzt. Sie enthielten in 100 g: 11,86% Wasser, 4,62% Asche, also 83,52% organische Substanz, und darin waren enthalten: 76,12% Kohlenhydrat 1,27% Rohfaser, 0,47% Fett und 5,39% Rohprotein.

Die verfütterte Kartoffelzulage war für alle drei Schweine 4211,8 g mit 3517,7 g organischer Substanz. Im ganzen erhielten sie:

	Kohlenhydrat	Rohfaser	Fett	Protein	
	4681,8 g	99,6 g	56,7 g	585,1 g	
im Kot wurden gefunden	202,6 g	54,2 g	60,3 g	219,3 g	
also wurden verdaut	4479,2 g	45,4 g	—	365,8 g	
	45,4 g	Rohfas. wollen wir zu Kohlenhydrat. rechnen		157,6 g	wurden im Harn ausgeschieden
	4524,6 g			also 208,2 g	Protein angesetzt.

Rechnet man aus den verdauten Kohlenhydraten die Äquivalente an Sauerstoff und Kohlensäure, so erhält man im ganzen:

	3746,0 l O_2	u. 3746,0 l CO_2
Dazu die Äquivalente an O_2 und CO_2 für umgesetztes Protein im Harn	149,0 l O_2	120,0 l CO_2
	3895,0 l O_2	3866,0 l CO_2
Hiervon ist abzuziehen für ausgeschiedene brennbare Gase 48,2 l Methan und 22,0 l Wasserstoff im Mittel der drei Respirationsversuche, in Äquivalente umgerechnet	107,4 l O_2	48,2 l CO_2
	3787,6 l O_2	3817,8 l CO_2
Der Gaswechsel des 1. Respirationsversuchs dieser Periode wurde bei der Temperatur von 22° bestimmt zu	2186,4 l O_2	2616,1 l CO_2
mithin blieben zum Ansatz	1601,2 l O_2	1201,7 l CO_2

Da 1 l Sauerstoff 0,503 g Fett und 1 l Kohlensäure 0,706 g Fett geben, so berechnet sich der Fettansatz aus

1601,2 l O_2 zu	806 g Fett,
und aus 1201,7 l Kohlensäure zu	848 g „
im Mittel	827 g Fett.
Der Ansatz beträgt also 827 g Fett à 9,5 Cal . .	= 7857 Cal
208,2 g Protein (= 1062,3 g frisches Fleisch à 5,7 Cal	= 1186 Cal
mithin der tägliche Ansatz der drei Schweine . .	= 9043 Cal

Dem Gewichtsansatz in der Höhe von 827 g Fett + 1062 g Fleisch = 1889 g stehen 1873 g als tägliche Gewichtszunahme gegenüber.

Diese Ausrechnung geht von der üblichen Annahme aus, daß in der Kohlenhydratmast nur Fett angesetzt worden ist. Indessen hat eine andere Art von Berechnung, die von Zuntz[1]) angegeben ist und der Möglichkeit eines gleichzeitigen Glykogenansatzes Rechnung trägt, insofern ihre Berechtigung, als bekanntlich in einer Fettperiode (Mast) in der Leber kaum mehr als 4% Glykogen vorhanden sind; folgt nun der Fettmast eine Kohlenhydratmast, wie es in unseren Versuchen der Fall ist, so kann zunächst der Glykogengehalt in der Leber bis auf 16% anwachsen und ebenso in den Muskeln sich von 0 oder 0,3% bis auf ca. 1% erhöhen. So hohe Glykogenwerte finden sich wohl bei Pferden und Hunden. Bei Schweinen liegen keine genauen Angaben vor. Wir wollen deshalb vorsichtig annehmen, daß der Glykogengehalt in den Muskeln nicht über 0,1% anwachse. Der Ansatz in der Leber beträgt im Maximum also ca. 12%.

Rechnen wir z. B. mit diesen Zahlen, so erhalten wir, da das später ermittelte Schlachtgewicht von den drei Lebern 5700 g betrug, als Zuwachs an Glykogen 684 g. Aus dem geschätzten Gewicht von 109 kg Muskelgewebe werden sich rund 109 g Glykogen berechnen lassen; in toto: ein maximaler Ansatz von 793 g Glykogen.

Da die drei Tiere 8 Tage im Vorversuch der 3. Periode schon reichlich mit Kohlenhydraten gefüttert sind, dürfte zu Beginn des Respirationsversuches und des eigentlichen Stoff-

[1]) Zuntz-Loewy, Physiologie des Menschen, 2. Aufl., S. 645.

wechselversuches kaum mehr viel Glykogen gebildet, sondern die größte Menge von Kohlenhydrat in Form von Fett umgesetzt sein.

Wir haben oben gesehen, daß zum Ansatz vorlagen: 1601 l O_2 und 1202 l CO_2. Unter der Annahme, daß x g Fett und y g Glykogen angesetzt sind, und unter der Voraussetzung, daß jedes Gramm Fett 1,989 l O_2 und die gleiche Menge Glykogen 0,828 l O_2 benötigen, und daß 1 g Fett 1,419 l und 1 g Glykogen 0,828 l CO_2 äquivalent sind, existieren folgende zwei Gleichungen:

$$1{,}989\,x + 0{,}828\,y = 1601,$$
$$1{,}419\,x + 0{,}828\,y = 1202,$$

folglich $0{,}570\,x = 399,$

d. h. $x = 700$ g Fett.

Setzt man diesen Wert für x in eine der beiden ersten Gleichungen ein, so erhält man: $y = 252$ g Glykogen.

In diesem Falle sind zum Ansatz gekommen:

1062 g	Fleisch
700 g	Fett
252 g	Glykogen
2014 g	

gegenüber der faktischen Gewichtszunahme von 1873 g. Ein so großer Glykogenansatz ist also auch auf Grund der Gewichtszunahme unwahrscheinlich, um so mehr, als Glykogen nicht trocken, sondern etwa mit seinem 3fachen Gewicht Wasser angesetzt wird, also der Ansatz 2770 g gleichkommen würde.

Bislang haben wir nur mit den Daten des gleich zu Beginn der 3. Periode ausgeführten Respirationsversuches gerechnet. Mitteln wir hingegen die gefundenen Zahlen von O_2 und CO_2 aller drei Respirationsversuche, so lauten diese: 2233 l O_2 und 2697 l CO_2.

Führt man mit Hilfe dieser Zahlen die auf S. 211 erklärte Rechnung aus, so bleiben zum Ansatz 1554,6 l O_2 und 1120,8 l CO_2, und man gelangt damit zu 761 g Fett und 49,5 g Glykogen.

Hiernach beträgt der Ansatz:

1062 g	Fleisch
761 g	Fett
50 g	Glykogen
150 g	Wasser mit dem Glykogen
2023 g	

gegenüber der faktischen Gewichtszunahme der 3 Tiere von 1873 g. Wenn auch die nach der ersten Methode aus Sauerstoff und Kohlensäure berechnete Fettbildung nur innerhalb der zulässigen Fehler des Respirationsversuches abweicht, so kann immerhin noch der geringe hier berechnete Glykogenansatz durch die Zunahme des Körpergewichtes gestützt werden.

Um den Arbeitsaufwand für den Ansatz zu berechnen, setzen wir zunächst die Menge der resorbierten Nährstoffe, von denen hauptsächlich Kohlenhydrate (inkl. Rohfaser) in Betracht kommen, in Äquivalente an O_2 und CO_2 sowie in ihren Brennwert um.

4524,6 g Kohlenhydrate brauchen:

	3746 l O_2	und liefern 3746 l CO_2	und 18958 Cal.
Dazu kommen die Äquivalente für 157,6 g umgesetztes Protein . . .	149 l O_2	120 l CO_2	630 Cal.
	3895 l O_2	3866 l CO_2	19588 Cal.
Abzüglich der 48,21 Methan und 22 l Wasserstoff . .	107 l O_2	48 l CO_2	527 Cal.
	3788 l O_2	3818 l CO_2	19061 Cal.
Respiriert wurden im Mittel der 3 Versuche	2233 l O_2	2697 l CO_2	
	1555 l O_2	1121 l CO_2	
Die entsprechenden Fettansätze sind: 782 g und 786 g, im Mittel 784 g à 9,5 Cal.			7448 Cal.
Wärmeentwicklung im Stoffwechsel			11613 Cal.
Im Verhältnis der Oberfläche wachsend, würde jetzt der Bedarf unter den Energieverhältnissen der 1. Periode betragen $\frac{7117 \cdot 5{,}464}{4{,}916} = 7910$ Cal.			7910 Cal,
also ein Mehrverbrauch von			3703 Cal.

	Übertrag	3703 Cal.
Da die Verdauungsarbeit für den Überschuß gegenüber der Erhaltungsperiode beträgt:		
für 2949 g Kohlenhydrate . . . . . à 0,4 =	1180	
für 64,6 g Protein . . . . . à 0,8 =	52	
für mehr aufgenommene 49,6 g Rohfaser à 2,6 =	129	
	1361	1361 „
so bleiben für die Assimilationsarbeit		2342 Cal.
Da 65,7 g Protein à 7,25 Cal mehr als in der 1. Periode angesetzt sind		476 „
so hat die Fettbildung von der Menge 827 g beansprucht .		1866 Cal,

d. h. 1 g Fett: 2,38 Cal.

Führt man nun nochmals die Rechnung mit dem Ansatz aus, der ebenfalls berechtigten Anspruch auf Richtigkeit machen kann, nämlich mit den Zahlen: 761 g Fett und 50 g Glykogen, so gestaltet sie sich folgendermaßen:

Zur Verfügung standen	19061 Cal.
Der Brennwert für den Ansatz: 761 g Fett + 50 g Glykogen	7439 „
	11622 Cal.
Abzüglich der Erhaltungsbedarf	7910 „
	3712 Cal.
Der Mehrverbrauch der Verdauungsarbeit gegenüber der Erhaltungsperiode	1361 „
	2351 Cal.
Assimilationsarbeit für 65,7 g Eiweiß	476 „
	1875 Cal.

Unter der Voraussetzung, daß der Ansatz von Glykogen keines besonderen Extraaufwandes an Energie bedarf, benötigt der Fettansatz von 761 g eine Energiemenge von 1875 Cal, d. h. 1 g verdautes Fett braucht zu seinem Ansatz 2,47 Cal. Das macht 25,9 % des Brennwertes des angesetzten Fettes.

Wir finden hier also das einigermaßen überraschende Ergebnis, daß die Bildung von Körperfett aus Kohlenhydraten nur wenig mehr Energieaufwand erfordert wie dessen Assimilation aus Nahrungsfett.

Wir möchten hier die Beobachtung nicht unerwähnt lassen, daß das Schweinefett, das wir in verschiedenen Proben den

ausgeschlachteten Tieren entnommen haben, im strengen Sinne nicht das allgemein übliche gewesen ist:

Der Schmelzpunkt des Schweinefettes wird angegeben

von König	32 bis 36°
„ Röttger	34 „ 40°

Es betrug der Schmelzpunkt

des verfütterten Palmins	25°
„ Nierenfettes von Schwein III . .	44 bis 45°
„ Mesenterialfettes von Schwein III	46 „ 46½°
„ „ „ „ I	51 „ 52°
„ Nierenfettes „ „ I	45°

Schon durch das Aussehen und durch das Urteil verschiedener Kenner wurde festgestellt, daß dieses Schweinefett nicht mit dem allgemein käuflichen zu identifizieren war.

Wie dem nun auch sein mag, das eine ist sicher, daß im tierischen Organismus bei Fettansatz eine gewisse Assimilationsarbeit vorhanden ist, deren Existenz Kellner ja immer behauptet hat.

Daß unsere Zahlen für die Assimilationsarbeit des Eiweißes mit 7,25 Cal und des Fettes mit 2 bis 2,5 Cal absolut richtig sind, wollen wir heute noch nicht behaupten; sie erhöhen oder erniedrigen sich mit dem wahren Wert des Energiebedarfs hungernder Schweine, den wir aus Tangls Versuchen mit 1024 Cal pro Quadratmeter und Tag berechnet haben.

Bestimmung kleiner Mengen Quecksilber in organischer Substanz.

Von

Svend Lomholt und J. A. Christiansen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

In der Literatur werden sehr viele verschiedene Bestimmungsmethoden kleiner Quecksilbermengen, die bei Untersuchungen über den Kreislauf des Quecksilbers im Organismus Bedeutung haben, angegeben. Viele nicht zufriedenstellende Versuche mit den bis jetzt vorgeschlagenen Methoden veranlaßten uns aber, eine neue auszuarbeiten. Unser Ziel war es, eine solche ausfindig zu machen, die zu Serienuntersuchungen geeignet wäre, eine hinreichende Genauigkeit zuließe und selbst in der Hand eines nicht sehr Geübten zuverläßlich wäre.

Viele der früher angewandten Methoden sind im Neubergschen Handbuch „Der Harn" angegeben. Außerdem sind kritische Übersichten u. a. von P. E. Raaschou[1]) und neuerdings von H. Buchtala[2]) gegeben worden, weshalb eine solche wohl überflüssig scheint. Wir wünschen nur einige der vorgeschlagenen Methoden kurz zu besprechen, um dadurch zu zeigen, welche Mängel wir besonders zu vermeiden streben.

Die Methode Raaschous[1]) ist, obgleich im Prinzip originell und gut, zu unserem Zwecke nicht anwendbar. Erstens ist es schwierig, das Quecksilber in einer Kugel zu sammeln; zweitens muß man für jede Analyse ein neues Destillationsröhrchen verfertigen, was zeitraubend ist, und endlich zerspringt dieser Apparat sehr leicht, wenn man destilliert.

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. **49**, 172, 1910.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 249, 1913.

Das Quecksilber als Quecksilbersulfid in kolloider Lösung, z. B. nach Schumacher und Jung[1]) colorimetrisch zu bestimmen, ist zwar recht einfach; aber sehr genaue Resultate kann man mit dieser Methode nicht erreichen, dazu ist die kolloide Lösung und mithin auch die Farbe nicht beständig genug.

Methoden, die auf einer Wägung fußen, werden immer die zuverlässigsten sein. Wir werden hier die von Schumacher und Jung[2]) vorgeschlagene, die seitdem öfters — zum Teil mit kleinen Modifikationen — angewandt worden ist, besprechen. Nach diesen Verfassern wird das Quecksilber durch Stannochlorid ausgefällt und von der Flüssigkeit durch eine in einem „Filtrierrohr" befindliche Schicht von Goldasbest abfiltriert. Der große Vorzug dieser Methode ist, daß die Manipulationen einfach und die Geräte leicht zu verschaffen sind. Handelt es sich aber (was sehr oft vorkommt) um Bestimmung von Bruchteilen von Milligrammen, dann werden die Wägungsfehler im Verhältnis zu der ganzen Menge zu groß, da es fast unmöglich ist, einen Apparat mit einer so großen Oberfläche bis zu konstantem Gewichte zu trocknen.

Es wird sicher am zweckmäßigsten sein, das Quecksilber durch Elektrolyse auszuscheiden. Man bekommt in dieser Weise das Quecksilber auf einer Elektrode[3]) niedergeschlagen, deren Taragewicht mit der Genauigkeit, die die Wage zuläßt, leicht bestimmbar ist. Unter vielen anderen haben O. Schumm[4]) und neulich H. Buchtala[5]) (dessen Bestimmungsweise der Methode Schumms mit einigen Änderungen nachgebildet ist) eine solche Bestimmung durch Elektrolyse ausgearbeitet. Die Elektrolyse wird von ihnen in einer direkt durch Einengung bis ca. 200 ccm der bei der Zerstörung der organischen Substanz (die sie mittels chlorsauren Kalis und Salzsäure ausführen) gewonnenen Lösung hergestellten Flüssigkeit vorgenommen. Die davon herrührenden Mängel, wie z. B. die äußerst kleine

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. **41**, 461, 1902.

[2]) Zeitschr. f. anal. Chem. **39**, 12, 1901.

[3]) Gold ist dem Platin vorzuziehen, da das Quecksilber sich damit leichter amalgamiert.

[4]) Zeitschr. f. anal. Chem. **44**, 73, 1905.

[5]) l. c.

Quecksilberkonzentration, die großen Mengen von Salzen und nicht zerstörten organischen Stoffen in der zu elektrolysierenden Lösung und deswegen unreine Ausscheidung des Quecksilbers, vermeiden wir durch „Konzentrationsfällung" nach Raaschou[1]). Dadurch wird allerdings der Analysengang etwas komplizierter, aber das Resultat auch um so zuverlässiger.

Von nicht geringerer Bedeutung als die eigentliche Mengenbestimmung des Quecksilbers ist, wenn man eine genaue Bestimmung anstrebt, die Wahl einer geeigneten Methode zur Zerstörung der das Quecksilber begleitenden organischen Substanz.

Man muß sich ein für allemal erinnern, daß bei dieser eine gewisse Vorsicht immer notwendig ist. Nach verschiedenen Angaben sind nämlich die Quecksilbersalze mit Wasserdampf flüchtig. Wenn man jedoch mit sauren Lösungen arbeitet, wird die Gefahr, daß dadurch Verluste entstehen könnten, nicht groß sein; jedenfalls haben wir bei Kontrollversuchen einen solchen niemals mit Sicherheit nachweisen können. Am meisten gebraucht ist bisher die Zerstörungsmethode nach Fresenius und Babo[2]) mit Salzsäure und Kaliumchlorat. Bei Flüssigkeiten mit niedrigem Gehalt an Fett und Eiweißkörpern, z. B. Harn, ist sie zwar anwendbar, aber selbst in solchen Fällen und bei langem Kochen unter Verwendung großer Mengen von Reagenzien ist es schwierig, allen organischen Stoff zu zerstören. Gegen Organe wie Leber oder Niere versagt sie fast vollständig.

Besser, wenngleich weniger üblich, ist es, nach A. Neumann[3]) mit einer Salpeter-Schwefelsäuremischung zu dekomponieren. Große Säuremengen sind jedoch auch nach dieser Methode erforderlich, um eine vollständige Zersetzung zu erreichen, und wenn es sich um Harn, Ascites u. dgl. handelt, ist eine langwierige Einengung notwendig.

Am besten scheint es uns, mit K. T. A. Jensen[4]) die Oxydierung mit Kaliumpermanganat in schwefel- oder salpetersaurer Lösung vorzunehmen. Diese Methode gibt vorzügliche Resultate, nicht nur bei Flüssigkeiten mit mäßigem Gehalt an

[1]) l. c. S. 175.

[2]) Annal. d. Chem. u. Pharm. 49, 308, 1844.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 115, 1904.

[4]) Ugeskrift for Læger, Köbenhavn, 74, Nr. 22, 1912.

organischen Stoffen, sondern auch, wenn eine Vorbehandlung mit rauchender Salpetersäure vorgenommen wird, bei Stoffen wie Faeces, Organen u. dgl.

Unsere Methode besteht somit aus folgenden Prozessen:

I. Zersetzung der organischen Substanz.
II. Fällung mit Schwefelwasserstoff nach Zusatz von Kupfersulfat und Filtrierung.
III. Auflösung des Sulfidniederschlages.
IV. Ausscheidung des Quecksilbers durch Elektrolyse.
V. Wägung.

I. Ist die zu untersuchende Substanz z. B. eine Harnprobe, so wird 1 l derselben mit ca. 80 ccm konzentrierter Schwefelsäure in einem Rundkolben versetzt. Danach wird zum Kochen erwärmt und Kaliumpermanganat in kleinen Portionen (ca. 2 g) zugesetzt. Nach jedem neuen Zusatz kocht man bis zur beginnenden Entfärbung der Flüssigkeit. Wenn Entfärbung bei einstündigem Kochen nach dem Zusatz nicht mehr stattfindet, ist der Prozeß zu Ende gebracht. Der Überschuß von Permanganat wird durch Zusatz einer gesättigten Lösung von Oxalsäure beseitigt. Bei Flüssigkeiten von bekannter Beschaffenheit ist es jedoch leichter, auf einmal einen durch Erfahrung bestimmten Überschuß von Permanganat zuzusetzen und dann einfach ca. $2^1/_2$ Stunden zu kochen. Bei Harn werden ca. 30 g pro Liter eine passende Portion sein. Wenn zuletzt der Überschuß an Permanganat nur klein ist, so daß ganz wenig Oxalsäurelösung zur Entfärbung erforderlich ist, so tut man am besten, wenn man etwas mehr davon zusetzt und von neuem kocht. Ist die Oxydierung zu Ende gebracht, so wird die Flüssigkeit durch den Zusatz der Oxalsäurelösung wasserhell werden.

Handelt es sich dagegen um Organe, Fäkalien oder dergleichen, dann muß eine Vorbehandlung zwecks Entfernung der Hauptmenge des organischen Stoffes vorgenommen werden. Man kocht zu diesem Zweck den mechanisch grob zerteilten Stoff 1 bis 2 Stunden in einem langhalsigen Rundkolben mit rauchender Salpetersäure. Die Zugabe dieser Säure muß mit einiger Vorsicht geschehen, da Fett eine starke Schaumbildung verursachen kann. Die Oxydierung ist von einer starken Ent-

wicklung schwarzroter Dämpfe begleitet. Ist viel Fett vorhanden, wird es vorteilhaft sein, das Kochen, wenn die festen Stoffe gelöst sind, abzubrechen, unter dem Wasserstrahl abzukühlen und vom festen Fettkuchen zu dekantieren oder durch einen gehärteten Filter zu filtrieren. Jedenfalls wird die Lösung nun bis auf 100 bis 200 ccm eingeengt, mit Wasser bis zu ca. 500 ccm verdünnt und mit Permanganat wie oben beschrieben oxydiert

II. Nach beendigter Oxydierung wird die mit 0,05 g krystallisierten Kupfersulfates versetzte Flüssigkeit mit Ammoniak teilweise neutralisiert und, wenn Salpetersäure zugegen ist, außerdem abgekühlt. Jetzt wird mit Schwefelwasserstoff gesättigt und der mit einem Stöpsel versehene Kolben einige Zeit der Ruhe überlassen, damit der Niederschlag sich ausflocken kann. Dann wird vor der Saugpumpe mittels eines in einem Gooch-Tiegel mit Siebplatte befindlichen Asbestfilters filtriert und ausgewaschen. Durch den Zusatz des Kupfersulfates wird erreicht, daß das Quecksilbersulfid in leicht filtrierbarer Form ausgefällt wird. Der verwendete Asbest muß mit Salzsäure ausgekocht und die kleinsten Partikelchen, die nach längerer Zeit (ca. 15 Min.) sich nicht zu Boden gesetzt haben, abgeschlämmt werden.

III. Jetzt wird der Tiegel mit dem Niederschlag in einem kleinen mit einem Uhrglas als Deckel versehenen Becher (ca. 50 ccm fassend) angebracht, 5 ccm konzentrierter Salpetersäure (68 %) und 1,5 ccm 1 %iger Salzsäure zugesetzt und gelinde gekocht, bis alles schwarze Sulfid in Lösung gegangen ist[1]).

Dann wird der Tiegel in einen Trichter angebracht und die daran haftende Lösung in den untergestellten Becher gespült. Lösung und Waschwasser müssen zusammen ca. 40 ccm ausmachen.

IV. Von der klaren, blauen Flüssigkeit wird nun das

[1]) Die angeführten Säuremengen müssen einigermaßen eingehalten werden. Wesentlich mehr Salzsäure erschwert die elektrolytische Trennung des Quecksilbers vom Kupfer; wesentlich weniger wird aber unvollständige Lösung des Quecksilbersulfids bewirken. Größere Mengen von Salpetersäure können die elektrolytische Ausscheidung des Quecksilbers wesentlich verlangsamen.

Quecksilber durch Elektrolyse ausgeschieden. Man gebraucht als Anode einen dünnen Platindraht, als Kathode eine dünne Goldplatte (1 × 2 cm) mit angeschweißtem Platindraht. Um eine einigermaßen schnelle Ausfällung zu bekommen, ist es notwendig, die Flüssigkeit während der Elektrolyse in Bewegung zu halten, was z. B. durch Luftdurchleitung geschehen kann. Man benutzt eine Spannung von 1,5 Volt. Bei dieser Spannung und gutem Umrühren wird im Laufe von 6 bis 8 Stunden praktisch genommen alles Quecksilber ausgefällt werden (bis zu 0,1 mg kann zurückbleiben). Dagegen wird Kupfer nicht oder (bei Anwesenheit kleiner Mengen von Salzsäure) nur in ganz geringen Mengen unter denselben Bedingungen ausgeschieden[1]). Wir haben bei unseren Versuchen immer 18 bis 20 Stunden (über Nacht) elektrolysiert. Nach dem Verlauf dieser Zeit werden die Elektroden ohne Unterbrechung des Stromes mit Wasser ausgewaschen, die Kathodenpolschraube[2]) losgeschraubt und die Kathode in einen Exsiccator gebracht. Das Trocknen mit Alkohol und Äther können wir nicht empfehlen, da dieses, namentlich bei größeren Quecksilbermengen, leicht einen Verlust verursachen kann.

V. Die über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewichte getrocknete Elektrode wird jetzt gewogen, in einer Glasröhre unter Wasserstoffdurchleitung (um Oxydierung einer etwa ausgefällten Spur von Kupfer zu vermeiden) stark erhitzt, abgekühlt und aufs neue gewogen.

Diese Methode ist, wie es aus einigen unten angeführten Kontrollversuchen hervorgeht, sehr zuverläßlich. Sie ist ein wenig umständlich; aber wenn die Analysen in Serien vorgenommen werden, wird man doch, wenn man einige Übung erlangt hat, die einzelne Analyse mit einem Zeitaufwand von 1 bis 2 Stunden durchführen können. Die Handhabung ist einfach und komplizierte Apparate sind nicht erforderlich. Nur ist zu bemerken, daß zur Elektrolyse Leitungs- oder Akkumulatorstrom anderen Stromquellen bei weitem vorzuziehen ist. Trockenelemente können benutzt werden; sie geben außerdem direkt die zu verwendende Spannung; aber es ist eine oftmalige

---

[1]) H. Freudenberg, Zeitschr. f. physikal. Chem. 12, 97, 1893.

[2]) Schumm, l. c., S. 83, Fußnote.

Erneuerung derselben erforderlich[1]). Cupron-Elemente erwiesen sich bei einigen mit ihnen vorgenommenen Versuchen als gänzlich unzweckmäßig; sie waren inkonstant und sehr unbequem zu gebrauchen. Um die zu verwendende Spannung (1,5 Volt) und eine gewisse Variabilität derselben zu erreichen, verwenden wir eine Abzweigung des Stromes nach dem Prinzip der Poggendorffschen Kompensationsmethode.

Die von uns bei den unten genannten Versuchen benutzte Wage war eine gewöhnliche analytische Wage von Sartorius, deren Ausschlag vier Teilstriche pro Milligramm betrug.

Wir haben in dieser Weise mehrere Untersuchungsreihen über das mit den Faeces und dem Harn ausgeschiedene Quecksilber durchgeführt, und die Methode hat sich stets vorzüglich bewährt. Auch gelegentlich einiger Untersuchungen des Quecksilberremanenses im Organismus bei letalen Quecksilbervergiftungen oder intercurrenten Todesfällen während einer Quecksilberkur haben wir sie mit ausgezeichneten Resultaten gebraucht, obgleich es z. B. bei der Untersuchung der Leber, der Lungen, des Darmkanals und des Gehirns sich um sehr beträchtliche Mengen organischer Substanzen handelte. Eine ausführliche Besprechung der bei dieser Untersuchung gewonnenen Resultate wird an anderen Orten mitgeteilt werden. Hier mögen nur noch einige Beleganalysen angeführt werden.

I. 500 ccm Harn, 2,8 mg Hg (als $HgCl_2$) enthaltend, wurden mit 40 ccm konz. H_2SO_4 und 15 g $KMnO_4$ versetzt und 3 Stunden gekocht. Es wurde gefällt, filtriert, gelöst und elektrolysiert wie oben beschrieben.

Elektr. + Hg	$0{,}1360_0$	g
„ leer	$0{,}1332_5$	„
Differenz (Hg)	$2{,}7_5$	mg.

II. 500 ccm Harn, 2,4 mg Hg enthaltend:

Elektr. + Hg	$0{,}5181_5$	g
„ leer	$0{,}5158_0$	„
Differenz (Hg)	$2{,}3_5$	mg.

---

[1]) Wenn die angegebenen Dimensionen der Elektroden und Gefäße verwendet werden, wird die Stromstärke ca. 1 Milliampere sein. Kennt man also die Kapazität des Elementes, kann man die Lebensdauer derselben annähernd berechnen.

III. 500 ccm Harn, 1,2 mg Hg enthaltend:

Elektr. + Hg	0,4520	g
„ leer	0,4508	„
Differenz (Hg)	1,2	mg.

IV. 500 ccm Harn, 0,48 mg Hg enthaltend:

Elektr. + Hg	$0,5251_5$	g
„ leer	$0,5247_0$	„
Differenz (Hg)	$0,4_5$	mg.

V. 50 g Faeces, 2,8 mg Hg enthaltend, wurden mit 0,05 g Kupfersulfats und 300 ccm rauchender Salpetersäure versetzt. Nach 1stündigem Kochen wurde auf gehärtetem Filter filtriert und mit konzentrierter (68%) Salpetersäure nachgespült. Das Filtrat wurde nach $1^1/_2$ Stunden gekocht und sodann bis 500 ccm mit Wasser verdünnt. Jetzt wurde bei $2^1/_2$stündigem Kochen $KMnO_4$ in 3 Portionen von je 5 g zugesetzt. Es wurde nun gefällt usw. wie oben.

Elektr. + Hg	0,1361	g
„ leer	0,1334	„
Differenz (Hg)	2,7	mg.

VI. 50 g Faeces, 1,2 mg Hg enthaltend:

Elektr. + Hg	0,5441	g
„ leer	0,5429	„
Differenz (Hg)	1,2	mg.

Bei allen hier angeführten Versuchen wurde ca. 18 Stunden mit einer Spannung von 1,5 Volt elektrolysiert. Die Stromstärke ist beim Beginn der Elektrolyse meistens ein wenig über 1 Milliampere gewesen; aber während des Verlaufs der Elektrolyse ist sie in der Regel bis ca. 0,1 Milliampere oder darunter gesunken.

Die vorbereitenden Untersuchungen sind im Carlsberg-Laboratorium, die übrigen im chemischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses Kopenhagens ausgeführt worden. Für das Interesse, das uns dabei erwiesen worden ist, danken wir den Herren Professor Dr. phil. S. P. L. Sörensen und Prosektor Dr. med. V. Scheel, und endlich sprechen wir auch Herrn Professor Dr. med. E. Ehlers unseren besten Dank aus für die große Bereitwilligkeit, mit der er uns das nötige Versuchsmaterial zur Verfügung gestellt hat.

Über die Störungen im Eiweißstoffwechsel Krebskranker. (Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Rhodanausscheidung.)

Von

Paul Saxl.

(Aus der I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

Den älteren Befunden über Störungen im Eiweißstoffwechsel Krebskranker haben sich in den letzten Jahren eine Reihe von Angaben hinzugesellt.

Wir wollen, bevor wir hier auf die Mitteilung eines neuen Befundes eingehen, eine kurze Übersicht über die bisherigen Befunde geben. Je zahlreicher sie werden, in um so schärferen Umrissen zeigt sich ein eigenartiges Bild einer Stoffwechselstörung beim Krebskranken, das von den anderen Formen endogener und toxischer Störung des Eiweißabbaues abweicht, und die Annahme Friedrich Müllers[1]), v. Noordens[2]), A. Schmidts[3]) u. a. rechtfertigt, es liege beim Krebskranken eine spezifische Störung des Eiweißzerfalles vor.

1. Der gesamte Eiweißumsatz. Die frühesten Untersuchungen sind die Friedrich Müllers[1]). Er fand bei 4 von 7 Fällen eine negative N-Bilanz und nahm unter sorgfältiger Erwägung und Kritik aller in Betracht kommender Verhältnisse eine spezifisch toxische Wirkung der Krebskrankheit auf den Eiweißzerfall im Sinne einer Erhöhung desselben an. Eine größere Zahl von Autoren hat sich fernerhin mit diesem Gegenstand beschäftigt [Friedrich Müller[1]), G. Klemperer[4]), v. Noorden und Gärtig[5]), Braunstein[6]), Moraczewsky[7]), Blumenthal[8]), Setti[9]), C. Lewin[10])].

---

[1]) Fr. Müller, Zeitschr. f. klin. Med. 1889.

[2]) v. Noorden, Handb. d. Physiol. u. Pathol. des Stoffwechsels. I. Auflage.

[3]) A. Schmidt, ebenda. II. Auflage.

[4]) G. Klemperer, Charité-Annalen 1891.

[5]) (Gärtig) v. Noorden, Dissertation Berlin 1890.

[6]) A. Braunstein, Zeitschr. f. Krebsforsch. 1, 199, 1904.

[7]) W. Moraczewsky, zitiert nach A. Schmidt, l. c.

[8]) F. Blumenthal, Festschrift f. Salkowski, Berlin 1904.

[9]) G. Setti, zitiert nach A. Schmidt, l. c.

[10]) C. Lewin, Deutsche med. Wochenschr. 1905.

Aus ihren Untersuchungen geht hervor, daß sich bei Krebskranken auch ohne Hunger, Fieber, stärkere Kachexie ein gesteigerter Eiweißzerfall findet; daß dies aber kein regelmäßiges Vorkommnis ist; ja es kann auch vereinzelt Stickstoffansatz stattfinden (v. Noorden).

2. Die Harnstoffausscheidung. Hiermit wenden wir uns der Besprechung der Zusammensetzung der N-Bestandteile des Harnes zu. Eine Verminderung des prozentuellen Harnstoffgehaltes wurde von Töpfer[1]), Setti[2]), W. Camerer[3]), Magnus-Alsleben[4]) und Murachi[5]) bei einer großen Zahl Krebskranker — verglichen mit anderen Schwerkranken — gefunden; eine kleinere Gruppe von Krebskranken zeigte normale Werte. Th. Brugsch[6]) fand bei einem sehr heruntergekommenen Oesophaguscarcinom hohe Harnstoffwerte. Demnach dürfen wir für die Mehrzahl der Krebskranken ein Heruntergehen des Harnstoffquotienten annehmen.

3. Die Ammoniakausscheidung wurde von Töpfer[7]), von v. Noorden[8]), von Limbeck[9]) vermehrt gefunden; auch Murachi fand bei einer großen Zahl von Krebskranken Vermehrung der NH_3-Ausscheidung. Setti vermißte sie in den von ihm untersuchten Fällen. — Die Werte von Murachi verdienen besondere Beachtung, da sie mit der verläßlichen Methode von Folin-Spiro ausgeführt wurden.

Dürfen wir in der Vermehrung des Ammoniaks im Harne Krebskranker einen Ausdruck der im Organismus bestehenden Acidosis sehen, so finden diese Befunde eine neue Unterstützung in den Untersuchungen von Porges und Leimdörfer[10]), die mit Hilfe ihrer Atemluftanalyse ebenfalls eine Acidosis im Blute Krebskranker nachwiesen, die bemerkenswerterweise nicht an den Zustand der Kachexie gebunden ist; auch nicht kachektische Krebskranke ergaben niedrige CO_2-Spannung im Blute, i. e. erhöhte Acidosis desselben. — Porges und Leimdörfer fanden diese Acidosis bei Krebskranken auch unabhängig von Ketonurie im Harn, so daß sie der Meinung Ausdruck gaben, daß die im folgenden erwähnten, mangelhaft oxydierten, sauren Eiweißkörper die Träger der Acidosis bei Carcinomatösen sind. —

Von besonderer Bedeutung für das Studium des Eiweißabbaues beim Krebskranken wurde jene Gruppe von N-haltigen Substanzen, von denen angenommen wird, daß sie der normalen Umbildung zu Harnstoff ent-

---

[1]) G. Töpfer, Wiener klin. Wochenschr. 1892.
[2]) G. Setti, zit. nach Malys Jahresber. 1899.
[3]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biol. 1902.
[4]) Magnus-Alsleben, Zeitschr. f. klin. Med. 1909.
[5]) N. Murachi, Beiträge z. Carcinomforsch. Heft 3.
[6]) Th. Brugsch, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1905.
[7]) G. Töpfer, l. c.
[8]) v. Noorden, l. c.
[9]) Limbeck, zitiert nach Murachi.
[10]) O. Porges und A. Leimdörfer, Beiträge z. Carcinomforsch. Heft 3.

gangen sind und in mangelhaft oxydierter Form im Harne auftreten. — Töpfer[1]) zeigte, daß der Reststickstoff im Harne der Krebskranken relativ vermehrt sei. Hatte er schon späterhin die Vermutung ausgesprochen, daß dieser von ihm gefundene Harnbestandteil mit den von Bondzynsky und seinen Mitarbeitern entdeckten Oxydproteinsäuren identisch ist, so zeigten Salomon[2]) und ich an einem großen Materiale und mit der praktisch leicht verwendbaren, im wesentlichen von Ginsberg[3]) ausgearbeiteten Methode, daß die Relation der Oxyproteinsäure zum Gesamtstickstoff bei der überwiegenden Mehrzahl der Krebskranken 3% beträgt, während Nichtkrebskranke eine Relation von 1 bis 2% zeigten. Die Oxyproteinsäurebefunde wurden von Kondo[4]) nachgeprüft und bestätigt. Falk, Salomon und Saxl[5]) bestimmten mit Hilfe der Formoltitration die Polypeptidfraktion und fanden auch hier eine beträchtliche Vermehrung gegenüber der Norm. Die Oxyproteinsäuren sind natürlich ein Teil der Polypeptidfraktion. — Angeregt durch diese Befunde fand E. Salkowski[6]), an seine eigenen älteren Befunde anknüpfend, den kolloidalen Stickstoff im Harne Krebskranker vermehrt. Er hat zu dessen Bestimmung ursprünglich Fällung mit Alkohol, später mit Metallsalzen angegeben und hat die Bestimmung des kolloidalen Harnstickstoffs für diagnostische Zwecke empfohlen. — Was zunächst das Verhältnis dieser kolloidalen Stickstofffraktion Salkowskis zu der Fraktion der Oxyproteinsäuren anlangt, wurde von Kojo[7]), dem Mitarbeiter Salkowskis, festgestellt, daß diese Fraktionen jedenfalls nicht völlig identisch sind. Kojo fand in der kolloidalen N-Fraktion auch Harnsäure. Vielleicht ist es auf diesen Umstand, daß nämlich mit der Kolloidfraktion Salkowskis noch vereinzelte andere Substanzen außer den Oxyproteinsäuren mitgerissen werden, zurückzuführen, daß die Nachprüfer, die mit der Methode Salkowskis gearbeitet haben, keine durchwegs befriedigenden Resultate erhalten haben, wenn auch aus der Summe der gewonnenen Zahlen hervorgeht, daß der von E. Salkowski gewonnene prinzipielle Befund hoher Ausscheidung von kolloidalem N für die meisten Krebskranken zutrifft. [Groß und Reh[8]), Ishioke[9]), Caforio[10]), Manzini[11]), Einhorn, Kahn und Rosenbloem[12]).]

[1]) G. Töpfer, Centralbl. f. d. ges. med. Wissenschaft 1897.

[2]) H. Salomon und P. Saxl, Beiträge zur Carcinomforschung, Heft 2.

[3]) W. Ginsberg, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol.

[4]) K. Kondo, Beiträge z. Carcinomforsch. Heft 3.

[5]) F. Falk, H. Salomon, P. Saxl, Med. Klinik 1900, Heft 3.

[6]) E. Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1905 u. 1910.

[7]) Kojo, Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 1911.

[8]) Groß u. Reh, Med. Klinik 1911.

[9]) Ishioke, Med. Klinik 1911.

[10]) Caforio, Berl. klin. Wochenschr. 1911.

[11]) Manzini, Arch. f. klin. Med. 1911.

[12]) Einhorn, Kahn u. Rosenbloem, Arch. f. Verdauungskrankheiten 1911.

Ebenso wie die N-Bestimmung der mangelhaft oxydierten Eiweißabbauprodukte eine relative Vermehrung ergab, führte die S-Bestimmung in dieser Gruppe zu relativ höheren Werten als bei anderen Kranken. So fand M. Weiß[1]) bei Krebskranken die höchsten Werte der relativen S-Ausscheidung. N. Murachi bestätigte diese Befunde. — M. Weiß hält den Neutralschwefel für großenteils identisch mit den Oxyproteinsäuren; immerhin blieben aber noch große Differenzen übrig: fand er doch z. B. bei Tabelle VI Fall 2 und 5 in der Oxyproteinsäurefraktion nur 65% und 52,7% des Neutralschwefels als Proteinsäureschwefel.

Resümieren wir die in diese Gruppe gehörigen Befunde, so ergibt sich, daß mit verschiedenen Methoden, die nicht genau die gleichen Substanzen treffen, jedoch alle nach einer gleichsinnigen Richtung hinweisen, erwiesen worden ist, daß im Harne Krebskranker Eiweißderivate, die ihrer normalen Umwandlung zu Harnstoff entgangen sind, in relativ vermehrter Weise auftreten.

Hieran reiht sich noch ein Befund von Salomon und Saxl[2]), die eine sehr augenfällige Vermehrung des leicht oxydierbaren Anteiles des neutralen Schwefels fanden; den Nachweis dieser Fraktion haben wir auch für diagnostische Zwecke empfohlen. M. Kaldeck[3]), Egon Přibram[4]), Mich. Mazzibelli[5]), E. Petersen[6]) haben diesen Befund nachgeprüft. Alle Autoren bestätigten den Befund. Die diagnostische Brauchbarkeit wurde von Petersen völlig anerkannt, von Přibram, Mazzibelli und Kaldeck jedoch nur mit starken Einschränkungen.

Salomon und ich[7]) haben den Nachweis dieser Schwefelfraktion neuerdings verbessert; wir verwenden diesen Nachweis als Schwefeloxydationsreaktion im allgemeinen mit jenem diagnostischen Erfolge, wie wir ihn in unserer Publikation geschildert haben. Eine Nachprüfung dieses Verfahrens ist noch nicht erschienen.

Überblicken wir die im vorstehenden gegebenen Daten, so ergibt sich folgendes Bild der Störung im Eiweißstoffwechsel Krebskranker: Bei einer nicht ganz konstant gefundenen Steigerung des Gesamtumsatzes findet relativ verminderte Harnstoffbildung, relativ vermehrte Ammoniakausscheidung und Vermehrung von Eiweißschlacken im Harne statt, die deren vollständigen Ab-

---

[1]) M. Weiß, diese Zeitschr. 27.

[2]) H. Salomon u. P. Saxl, Wiener klin. Wochenschr. 1911; Beiträge z. Carcinomforsch. Heft 3.

[3]) M. Kaldeck, Wiener med. Wochenschr. 1911.

[4]) Egon Přibram, Wiener klin. Wochenschr. 1911.

[5]) Michele Mazzibelli, Rif. medica 1912.

[6]) E. Petersen, Deutsche med. Wochenschr. 1912.

[7]) H. Salomon u. P. Saxl, Deutsche med. Wochenschr. 1912.

bau zu Harnstoff, also wahrscheinlich der völligen Oxydation entgangen sind. Es ist daher anzunehmen, daß diese Störung im intermediären Eiweißabbau Krebskranker diejenige ist, die dem ganzen Stoffwechselbild ihr Gepräge verleiht. Die mangelhafte Eiweißoxydation führt zu vermehrter Persistenz saurer Produkte (Oxyproteinsäuren, usw.), die der Organismus mit verstärkter Ammoniakbildung beantwortet; die relative Vermehrung dieser beiden N-Fraktionen im Harn bedingt schon allein eine relative Verminderung der Harnstofffraktion im Harn, wobei eine Verminderung der Produktion im oben angeführten Sinne natürlich auch zu erwägen ist. — Hierzu kommt noch die stark vermehrte Fraktion des leicht oxydablen Schwefels.

So steht denn das Bild der Störung im Eiweißstoffwechsel Krebskranker im Zeichen der gestörten inneren Oxydation des Eiweißes. Lassen wir die obenerwähnten Beobachtungen Revue passieren, so dürfen wir sagen, daß bis jetzt keine Krankheitsgruppe aus der menschlichen Pathologie — von speziellen Intoxikationen abgesehen — bekannt ist, bei der diese Störung der intermediären Oxydation des Eiweißes so deutlich hervortritt wie bei der Krebskrankheit.

Ich bin nun der Frage nachgegangen, welche Faktoren diese mangelhafte Eiweißoxydation bedingen könnten. Der erste Gedanke richtete sich natürlich auf „inneren" Sauerstoffmangel; das klassische Gift, das diesen bedingt, ist bekanntlich die Blausäure.

Die Möglichkeit einer intermediären Bildung geringster Mengen von Blausäure bei Krebskranken schien auch durch ein anderes Moment erwägenswert. Durch Lang[1]) und Hejmann[2]) wurde erwiesen, daß Blausäure im Organismus zu Rhodan entgiftet wird. Rhodan ist mit Permanganat leicht zu SO_3 oxydierbar, und so dachte ich von vornherein, daß die von Salomon und mir[3]) mit H_2O_2, von E. Přibram[4]) später mit Permanganat oxydierte S-Fraktion Rhodan sein könnte.

[1]) S. Lang, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **34**.
[2]) Hejmann, zitiert nach Lang.
[3]) H. Salomon und P. Saxl, l. c.
[4]) E. Přibram, l. c.

Diesen Erwägungen standen jedoch neue Befunde von A. Loewy[1]) gegenüber, der bei Cyankalivergiftung von Hunden, wohl eine sehr starke Vermehrung des Neutralschwefels, eine Steigerung des gesamten Eiweißumsatzes, aber keine Vermehrung des Ammoniaks und des Reststickstoffs, keine Verminderung des Harnstoffes nachweisen konnte.

Hingegen schien eine andere in dieselbe Gruppe gehörige, experimentell gewonnene Stoffwechselstörung von vornherein eine gute Analogie mit dem Stoffwechsel der Krebskranken zu bieten.

Nach Verabreichung relativ kleiner und gewiß nicht toxischer Dosen von Rhodan wurde von Edinger, Clemens[2]), A. Mayer[3]) eine eigenartige Störung im Eiweißstoffwechsel beobachtet, die die genannten Autoren als Wirkung von kleinsten Mengen von Blausäure auffassen, die im Stoffwechsel intermediär abgespalten wird. Wir hätten es hier also mit einer ganz schwachen Blausäureintoxikation zu tun. Die Autoren stellten nach Verabreichung von 0,25 bis 1 g Rhodan an gesunde Menschen — einige Tage lang fortgegeben — fest, daß der Gesamtumsatz des Eiweißes stieg, die Ammoniak- und Neutralschwefelausscheidung[4]) vermehrt war — also ein ganz ähnliches Bild, wie wir es bei den Krebskranken sahen; diese Ähnlichkeit wird noch dadurch vergrößert, daß das Rhodan vermehrt im Harn ausgeschieden wird und demnach ein leicht oxydierbarer Schwefel im Harn vorhanden ist.

Dieser auffälligen Parallelität der beiden Stoffwechselstörungen bin ich nun weiter nachgegangen und suchte zunächst eine Lücke in den Angaben Edingers und seiner Mitarbeiter auszufüllen, die sich mit Rücksicht auf die oben angeführten Befunde A. Loewys bei der Cyankalivergiftung besonders bemerkbar machte. A. Loewy fand bei Cyankalivergiftung wohl starke Vermehrung des Neutralschwefels, vermißte jedoch die Vermehrung des Reststickstoffs und des Ammoniaks. Die letztere wurde bei Rhodanverfütterung von Edinger, Clemens, Mayer wiederholt gefunden, so daß ich diese Be-

[1]) A. Loewy, diese Zeitschr. 8.

[2]) A. Edinger und P. Clemens, Zeitschr. f. klin. Med. 59.

[3]) A. Mayer, Arch. f. klin. Med. 79 und 80.

[4]) Und zwar viel stärker vermehrt, als dem Schwefel des ausgeschiedenen Rhodans entsprach.

funde nicht weiter nachgeprüft habe. Hingegen war der nicht oxydierte Eiweißstickstoff zu untersuchen, und ich wandte daher die Oxyproteinsäurebestimmung nach Rhodanverfütterung an. Es ergab sich hierbei folgendes:

Tabelle I.

Versuchsperson	Datum 1913	Eingegebene Menge von Rhodannatrium puriss. Merck g	In 24 Std. wurden ausgeschied. Harnmenge ccm	Rhodan g	Gesamt-N g	Oxyprotein-N g	Relation von Gesamt-N : Oxyprot.-N g	Ausfall der Schwefelreaktion
I. 22jähr. Mann in voller Rekonvaleszenz nach lobärer Pneumonie	15. II.	—	1600	0,045	16,4	0,188	0,15	0
	16.	1,0	1800	0,098	17,4	0,217	1,25	0
	17.	0,5	1750	0,112	15,4	0,212	1,38	0
	18.	—	1300	0,132	15,7	0,308	1,90	schwach+
	19.	—	1600	0,162	16,0	0,464	2,90	+
	20.	—	1700	0,160	14,4	0,282	1,95	0
	21.	—	1800	0,144	16,4	0,216	1,50	0
	22.	—	1500	0,148	13,4	0,174	1,30	0
	23.	—	1600	0,130	14,8	0,150	1,16	0
	24.	—	1600	0,141	15,7	0,152	0,99	—
	26.	—	1750	0,112	13,7	0,151	1,10	—
	11. III.	—	1650	0,067	14,5	0,152	1,05	0
II. 16jähr. Mann; ausheilendes Ulcus ventriculi	24. II.	—	1200	0,049	12,2	0,138	1,13	0
	25.	1,0	1170	0,096	10,8	0,152	1,40	0
	26.	0,5	1700	0,193	10,8	0,250	2,30	0
	27.	—	1350	0,145	12,5	0,268	2,14	schwach+
	28.	—	1950	0,260	15,4	0,596	2,98	+
	1. III.	—	1000	0,130	9,5	0,290	3,06	schwach+
	2.	—	1750	0,110	11,6	0,250	2,15	0
	3.	—	—	—	—	—	—	—
	4.	—	1650	0,090	10,8	0,156	1,44	0
	5.	—	1250	0,064	12,0	0,140	1,23	0
III. 54jähr. Frau; blutendes Ulcus ventriculi. $2^1/_2$ l Milch täglich	17. III.	—	750	0,068	8,4	0,110	1,30	—
	18.	1,0	900	—	9,5	0,114	1,12	—
	19.	—	650	—	7,5	0,130	1,74	—
	20.	—	850	—	9,8	0,226	2,31	—
	21.	—	800	—	9,6	0,146	1,53	—
	22.	—	800	—	8,0	0,080	1,00	—
	23.	1,0	650	—	6,5	0,057	0,90	—
	24.	0,5	750	0,105	7,1	0,075	1,06	—
	25.	—	850	0,120	6,4	0,128	2,00	—
	26.	—	850	—	7,5	0,201	2,68	—
	27.	—	800	0,130	7,8	0,198	2,54	—
	1. IV.	—	650	0,068	9,2	0,094	1,02	—

Anmerkung: Die Oxyproteinsäureausscheidung wurde mit der Methode von W. Ginsberg unter jenen Kautelen ausgeführt, wie sie Salomon und ich in früheren Publikationen mitgeteilt hatten. Über die Rhodanbestimmung vgl. das Folgende.

Wir finden demnach nach Rhodanverfütterung einen langsamen, sehr deutlichen Anstieg der relativen Oxyproteinsäureausscheidung. Dieser Anstieg erreicht seinen Höhepunkt in 3 bis 4 Tagen, nachdem $1^1/_2$ g Rhodannatrium pur. Merck verfüttert war. Die hier verzeichneten Werte erinnern in ihrer Höhe an jene, die wir bei Krebskranken gefunden hatten. Hat diese vermehrte Ausscheidung ihren Höhepunkt erreicht, so sinkt sie in den nächsten 3 bis 4 Tagen wieder ab. Es wurden ferner bei den oben angeführten Rhodanverfütterungen die im Harne täglich ausgeschiedenen Rhodanmengen bestimmt. Ich fand — sowie A. Mayer[1]) —, daß das eingeführte Rhodan relativ langsam ausgeschieden wird; die Steigerung des Rhodans im Harn ist nach Rhodaneingabe deutlich vorhanden; aber so rasch als L. Pollak[2]) mit einer anderen Methode gefunden hatte, wird eingeführtes Rhodan nicht ausgeschieden; vielmehr erstreckt sich die Rhodanausscheidung auf lange Zeit. — Ich habe an einzelnen Tagen dieser vermehrten Rhodanausscheidung die Schwefeloxydationsreaktion von Salomon und mir angestellt. Sie war, wie als selbstverständlich anzusehen ist, auf der Höhe der Rhodanausscheidung etwa bei 12 bis 15 mg in 100 ccm Harn positiv — denn hier kommt es ja auf die Konzentration des schwefelhaltigen Körpers in der von uns zur Oxydation genommenen Harnmenge an.

War sonach durch die Vermehrung der Oxyproteinsäure nach Rhodanverfütterung eine neue Parallelität mit der Störung im Eiweißstoffwechsel Krebskranker gefunden, so ging ich nun an die quantitativen Bestimmungen der Rhodanausscheidung bei Krebskranken. Angaben über die Rhodanausscheidung im Harne Krebskranker lagen bisher nicht vor. — Einzelne von Gröber[3]) im Speichel mit der Eisenchloridreaktion angestellte Rhodannachweise ergaben ein häufiges Fehlen desselben im Speichel kachektischer Individuen, darunter auch von Krebskranken.

Zum quantitativen Nachweis des Rhodans im Harn, im Speichel usw. wird bekanntlich die Eisenchloridreaktion verwendet. Die einfachste Ausführung ist der Zusatz sehr ver-

[1]) A. Mayer, l. c.
[2]) L. Pollak, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2.
[3]) Gröber, Arch. f. klin. Med. 60.

dünnter Eisenchloridlösung zum angesäuerten Harn. Wie allgemein bekannt[1]), ist der Ausfall dieser Reaktion als unzuverlässig zu bezeichnen. Es scheint mir dies auch aus den Daten von Edinger und von Mayer hervorzugehen, wo auch bei Darreichung von Rhodannatrium per os und quantitativ nachweisbarer Rhodanvermehrung die Eisenchloridreaktion ganz inkonstant positiv oder negativ ausfiel.

Dieser negative Ausfall wunderte mich um so weniger, als die Eisenchloridreaktion auch unter folgenden Bedingungen im Carcinomharne negativ ausfiel: 0,030 g Rhodannatrium wurden in 1 l Wasser gelöst. Diese Rhodanmenge entspricht etwa der Tagesmenge. Die Eisenchloridreaktion fiel in dieser wässerigen Lösung positiv aus. Mischte ich diese Rhodanlösung in gleichen Mengen mit Carcinomharn, so fiel sie vollständig negativ aus.

Der qualitative Nachweis nach vorheriger Isolierung [Gscheidlen[2])] liefert wohl bessere Anhaltspunkte für die Erkennung der Anwesenheit von Rhodan, erlaubt jedoch keine colorimetrische Schätzung der Rhodanmenge, da die vorherige Einengung am Wasserbad zu Zersetzungen des Rhodans führt. Diese Reaktion ist fast in allen Harnen positiv; in Carcinomharnen besonders schön.

Ich habe demnach quantitative Bestimmungen der Rhodanmenge im 24stündigen Harn angestellt. Die Ausführung erfolgte mit der Methode von Rupp. Der 24stündige Harn der Patienten wurde genau gesammelt. Die Patienten erhielten außer Morphium kein Medikament. Dieses beeinflußt den Rhodanstoffwechsel nicht. Alle anderen Medikamente wurden vermieden. Die Ausführung der Methode war bei den genannten Autoren folgende:

Das Prinzip der Methode besteht darin, daß mit Bicarbonat versetzte Rhodanidlösungen große Mengen von Jodlösungen entfärben; es entsteht hierdurch in der natriumbicarbonathaltigen Lösung Jodcyan:

$$CNSK + 4\,J_2 + 4\,H_2O = H_2\,SO_4 + 6\,HJ + KJ + CNJ.$$

---

[1]) Neuberg, Der Harn sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten. Springer 1911, S. 652.

[2]) Neuberg, l. c., S. 652 ff. und Edinger u. Clemens, l. c.

Der Prozeß ist im Laufe von 4 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur beendet; wird dann mit Salzsäure vorsichtig angesäuert, so wird aus KJ Jodwasserstoff gebildet und das Jodcyan zersetzt, indem Cyanwasserstoff entsteht.

$$CNJ + HJ = CNH + J_2.$$

Der ganze Prozeß läßt sich dann durch die Gleichung

$$CNSK + 3\,J_2 + 4\,H_2O = H_2SO_4 + 5\,HJ + KJ + CNH$$

ausdrücken, d. h. 1 Molekül Rhodanid entspricht 6 Äquivalenten Jod.

Zur Ausführung werden die folgenden Reagenzien benutzt:

1. Salpetersäurehaltiges Wasser (1 : 100).
2. Ca. 3%ige Silbernitratlösung.
3. Mit Säure gereinigter, ausgewaschener und geglühter Kieselgur.
4. Reines Natriumbicarbonat.
5. Jodkalium.
6. $^n/_{10}$-Jodlösung.
7. $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung.
8. 10%ige Salzsäure.
9. 2%ige Stärkelösung.

Ausführung: Eine klar filtrierte bzw. durch Kochen enteiweißte Harnprobe wird in geeigneter Quantität (50 bis 100 ccm) mit stark verdünnter Salpetersäure angesäuert und mit einem Überschuß (100 ccm etwa auf 50 ccm Harn) einer 3%igen Silbernitratlösung versetzt. Zur feineren Verteilung des Niederschlages setzt man ein wenig Kieselgur zu, das man mit einem Glasstabe in dem entstandenen Niederschlage verrührt; dann erwärmt man auf dem Wasserbade, bis sich der Niederschlag gut abgesetzt hat (ungefähr 10 Minuten).

Man überzeugt sich jetzt durch Zugabe von ein wenig Silbernitratlösung, daß die Fällung vollständig ist, und filtriert dann unter Anwendung von vermindertem Druck durch ein Papierfilter, das in einen Platinkonus gesteckt ist; das Filtrat muß völlig klar sein. Der Niederschlag wird mehrmals mit dem Salpetersäurewasser ausgewaschen und dann mitsamt dem Filter in ein weithalsiges, 1 l fassendes Glasstopfengefäß mit etwas Wasser gebracht. Hierauf gibt man 3 g Bicarbonat hinzu und über-

zeugt sich nach dem Lösen desselben, daß die Flüssigkeit schwach alkalisch reagiert, sonst wird mehr Bicarbonat zugegeben. Dann fügt man 3 g Jodkalium hinzu und schüttelt leicht, bis das Jodkalium und alles Bicarbonat gelöst ist; weiter verteilt man mittels eines Glasstabes das Filterpapier und den Niederschlag und läßt $^n/_{10}$-Jodlösung hinzufließen, bis die Flüssigkeit braun ist, mischt durch leises Schütteln und läßt in einem dunklen Raum stehen.

Nach 4stündigem Stehen säuert man vorsichtig mit $10\,^0/_0$iger Salzsäure an (bei zu stürmischer Kohlensäureentwicklung kann Jodverlust eintreten), gibt Stärkelösung hinzu und titriert mit Thiosulfatlösung zurück.

Nach dem oben Angeführten entsprechen 6 Äquivalente Jod 1 Molekül Rhodanwasserstoffsäure (= 59,08); d. h. 60 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung entsprechen 59,08 mg Rhodanwasserstoffsäure.

Ergibt sich aus dem Titrieren, daß α ccm Jodlösung verbraucht ist, so waren in dem untersuchten Harnvolumen $\frac{59{,}08}{60} \cdot \alpha$ $= 9{,}9847 \cdot \alpha$ mg Rhodanwasserstoffsäure vorhanden. —

Ich bin von dieser von Rupp und Schied angegebenen, von Thiel verbesserten und von Edinger und seinen Mitarbeitern vielfach verwendeten Methode nur in zwei Punkten abgegangen: Erstens unterließ ich — ebenso wie Edinger es getan hat — den Kieselgurzusatz, da dieser das Auswaschen des Silberniederschlages auf dem Filter bedeutend verlangsamt und erschwert. Ich habe vielmehr — so wie Edinger — nach dem Zusatz der Silbernitratlösung den Niederschlag im Becherglas nur mit einem breitgummierten Glasstab fest verrieben (etwa 2 Minuten lang), wodurch der Niederschlag ebenfalls sehr feinkörnig wird. — Ich habe ferner gleich bei den ersten Bestimmungen beobachtet, daß in konzentrierten Harnen, insbesondere wenn man 100 ccm von denselben nimmt, ein derartig voluminöser Niederschlag auftritt, daß ein Auswaschen desselben ebenfalls sehr schwierig ist; ich konnte mich auch überzeugen, daß die Rhodanwerte, die in solchen Harnen bei Verwendung von 100 ccm Harn höher sind, als wenn man nur 50 oder 25 ccm zu der Rhodanbestimmung nimmt. So fanden sich bei ein und demselben Harn vom spezifischen Gewicht 1029

	für 100 ccm Harn berechneter Rhodangehalt in mg
bei Verwendung von 100 ccm Harn	0,025
„ „ „ 50 ccm „	0,023
„ „ „ 25 ccm „	0,019.

Ich habe daher regelmäßig nur 50 ccm Harn für die Rhodanbestimmung verwendet; bei jenen Harnen aber, in denen das spezifische Gewicht über 1020 war, nur 25 ccm.

Ich fand mit dieser Methode bei einer größeren Zahl von Krebskranken und andersartigen Krankheiten folgende Werte für die Rhodanausscheidung im Harn:

Tabelle II.

Carcinome und carcinomverdächtige Fälle.

Fall Nr.	Krankheit	Harnmenge	Rhodan im Harn g	Bemerkungen
1	Carcinoma ventr.	1300 1000	0,1964 0,1765	Rezidiv nach Operation.
2	Gallertkrebs des Peritoneums	1200 900 1450	0,1980 0,1964 0,2328	Probelaparotomie sichert die Diagnose.
3	Carcinoma ventr.	650	0,1458	
4	Carcinoma viar. hepat.	700	0,1549	
5	Carcinoma ventr.	500 350 350 700	0,0904 0,0746 0,0724 0,1224	Großer Ascites.
6	Carcinoma ventr.	1800	0,0725	Die Möglichkeit eines gutartigen Ulcus ventriculi ist nicht auszuschließen; Patient entzog sich der weiteren Beobachtung; sehr anämisch; kachektisch.
7	Carcinoma an der Papilla Vateri	1800	0,1986	Ikterus; im Duodenalinhalt und in den Faeces kein Trypsin. Die Möglichkeit eines Steinverschlusses ohne Carcinom ist nicht auszuschließen.
8	Carcinoma viar. hepat.	600	0,1564	1 Tag ante mortem untersucht.
9	Leukosarkomatose	850	0,2070	Wenig kachektisch.
10	Carcinoma ventr.; Lebermetastasen	800 1000	0,0966 0,1124	Ascites. Sehr kachektisch.
11	Carcinoma oesophagi	1800	0,1225	Diagnose fraglich.

Tabelle II (Fortsetzung).

Fall Nr.	Krankheit	Harnmenge	Rhodan im Harn g	Bemerkungen
12	Drüsenrezidiv nach operiertem Magencarcinom	950 1050	0,1995 0,2045	Wenig kachektisch.
13	Carcinoma oesophagi	500	0,1024	Sehr kachektisch.
14	Carcinoma pancreatis	3000	0,1684	Pankreascirrhose (bei Lebercirrhose) differential-diagnostisch nicht auszuschließen.
15	Sarkom des Dickdarms; große Metastasen in der Leber	1050	0,1367	
16	Carcinoma ventr.	1200	0,1467	Gar nicht kachektaich.
17	Carcinoma viar. hepat.	600	0,1564	Fieber; sehr kachektisch.
18	Carcinoma ventr.	1400	0,1084	
19	Carcinoma pancreatis	1200	0,212	„ „
20	Carcinoma ventr. große Metastasen Ascites	900	0,081	„ „
21	Carcinoma recti	500	0,105	
22	Carcinoma ventr.	1600	0,224	Durch Obduktion bestätigt.
23	Carcinoma ventr.	700	0,028	Diagnose fraglich.

Tabelle III.

Kontrollfälle (Gesunde und Nichtkrebskranke).

Fall Nr.	Krankheit	Harnmenge ccm	Rhodan im Harn g	Bemerkungen
1	Gesunder junger Mann	1350	0,0584	Starker Raucher.
2	Gravide Frau	850	0,0876	Im 5. Monat.
3	„ „	1000	0,0910	„ 8. „
4	Pneumonia lobaris . .	700	0,1106	Hochfiebernd.
	„ „ . .	700	0,0428	5 Tage nach der Krise.
5	Leukämie (myelogen) .	1400	0,0987	
6	Pneumonia caseosa (Tbc. pulmonum) . .	700	0,0805	Hohes Fieber.
7	Vitium cordis	450	0,0584	Stauungserscheinungen.
8	Cirrhosis hepatis incip.	1200	0,0506	
9	Tuberculosis peritonei .	1100	0,0558	Sehr kachektisch.
10	Ulcus ventriculi . . .	1400	0,0564	Alter Mann.
11	„ „ . . .	800	0,0325	Sehr anämisch.

Tabelle III (Fortsetzung).

Fall Nr.	Krankheit	Harnmenge ccm	Rhodan im Harn g	Bemerkungen
12	Lungentuberkulose . .	800	0,0836	Wenig Fieber.
	„ . .	1000	0,1364	Hohes „
13	Vitium cordis	800	0,0884	
14	Sepsis	1100	0,1122	Fieber.
15	Tuberkulose d. Lungen	1300	0,0913	Hohes Fieber.
16	Nephritis chronica . .	600	0,0366	
17	Cirrhosis hepatis et pancreatis (Cirrh. bronzée)	3000	0,2024	
18	Angina	1000	0,0882	Hohes Fieber.
19	Nephritis chronica . .	600	0,0604	
20	Cirrhosis hepatis . . .	700	0,0840	

Tabelle IV.

(Entnommen der Arbeit von A. Mayer.)

Fall Nr.	Krankheit	Harnmenge ccm	Rhodan im Harn [1] g	Bemerkungen
1	Chronische Nephritis	10000	0,1265	
2	„ „	4000	0,0966	
3	„ „	3900	0,1100	
4	„ „	2900	0,0955	
5	„ „	2700	0,1075	
6	Lebercirrhose	1700	0,0249	
7	Malaria	1300	0,1565	Fiebertag.
	„	1050	0,0999	Kein Fieber.
	„	1200	0,1321	Fiebertag.
8	Erysipelas facieii	1100	0,0893	Fieber.
9	Pneumonie	900	0,0821	Am 4. Tage.
	„	1300	0,0655	In der Lysis.
10	Typhus abdominalis	900	0,0599	In der 2. Woche.
11	Anämie	850	0,0356	
12	Psoriasis	1250	0,0405	
13	Lues	900	0,0367	In Quecksilberbehandlung.
14	„	1200	0,0404	do.
15	„	800	0,0209	do.
16	Diabetes mellitus	6000	0,0605	
17	Chron. tuberkulöse Eiterung .	1300	0,0390	
18	Chron. Lymphdrüseneiterung	1000	0,0683	
19	Lungentuberkulose	1200	0,0456	Fieber.
20	„	1000	0,0360	
21	„	1300	0,0876	Fieber.
22	Stomatitis membranacea . .	1400	0,0305	
23	„ levis	1200	0,0400	
24	Skarlatina	1000	0,0406	Fieber.

[1]) Die im Originale angegebenen 6stelligen Zahlen wurden von mir auf 4stellige gekürzt.

Es zeigen demnach die hier gefundenen Zahlen für die Rhodanausscheidung im Harne Krebskranker im allgemeinen erheblich höhere Werte als die anderer Krankheiten und die gesunder Menschen. Wir werden daher zu der Annahme geführt, daß bei den Krebskranken eine Störung des Rhodanstoffwechsels im Sinne einer gesteigerten Ausfuhr besteht. In dieser Annahme werden wir nicht nur durch die mit der Ruppschen Methode gefundenen Zahlen, sondern in gleicher Weise durch die Vermehrung der Ammoniak-, der Oxyproteinsäure- und der Neutralschwefelausfuhr und endlich durch das Auftreten der Schwefelreaktion bestärkt; alle diese Faktoren finden sich in gleicher Weise bei der Krebskrankheit wie bei der Rhodanverfütterung.

Es erhebt sich nun die Frage: Hat die vermehrte Rhodanausscheidung und die offenbar mit ihr einhergehende vermehrte Rhodanbildung mit der Krebskrankheit direkt zu tun oder ist sie nur abhängig von jenen Symptomen: Hunger, Fieber, Kachexie, Anämie, die auch bei anderen Krankheiten vorkommen?

Ich muß zunächst betonen, daß jener obenerwähnte Befund einer Verminderung des Rhodans im Speichel Krebskranker für die Beurteilung unserer Fragestellung nicht in Rücksicht zu ziehen ist; denn Edinger konnte ein besonders hohes Speicherungsvermögen der Speicheldrüsen für Rhodan nicht konstatieren; im übrigen hat das Auftreten oder Nichtauftreten von Rhodan im Speichel natürlich mit der Gesamtbilanz des Rhodans nichts zu tun.

Von anderen Faktoren, die die Rhodanausscheidung beeinflussen können, hat A. Mayer vermehrte Wasserausscheidung und Fieber feststellen können. Die vermehrte Wasserausscheidung führt wohl dort, wo sie sehr erheblich ist, zu einer nicht gar zu beträchtlichen Vermehrung des ausgeführten Rhodans. So im Falle 1 von Mayer, wo selbst 10000 ccm Harn nur 0,1265 ccm Rhodan ausführten. Die erhöhte Ausscheidung des Rhodans im Fieber, die A. Mayer festgestellt hat, fand auch ich in einigen Fällen; in einigen Fällen vermißte ich sie.

Doch bleiben auch die hier gefundenen Rhodanwerte beträchtlich hinter der Höhe der vermehrten Rhodanausscheidung bei Krebskranken zurück. Die Mehrzahl der von mir untersuchten Carcinome hat auch, wie aus Tabelle II ersichtlich ist, nicht gefiebert.

Was nun den Einfluß der Nahrungsaufnahme, insbesondere des Hungers auf die Rhodanausfuhr anlangt, habe ich in Gemeinschaft mit Frau Dr. E. Weber Versuche am Tier angestellt, die folgendes ergaben.

Versuch.

Ein männlicher Hund von 10,400 kg erhielt durch Perioden von 2 bis 3 Tagen das gleiche Regime; der Harn wurde durch Katheterismus täglich früh aufgefangen. Aus den mehrtägigen Perioden wurde dann der Mittelwert für die 24stündige Ausscheidung berechnet.

Es wurden ausgeschieden:

Datum 1913	Regime	Harnmenge ccm	In 24 Stunden: Gesamt g	Rhodan g
15., 16., 17. IV.	150 g Fleisch 50 g Reis	190	5,45	0,0477
18., 19. IV.	Hunger Wasser reichlich	135	3,52	0,0314
20., 21. IV.	150 g Fleisch 50 g Reis	345	5,16	0,0415
22., 23. IV.	150 g Fleisch 50 g Reis	500	5,78	0,0569
24., 25. IV.	Hunger; Wasser	100	3,12	0,0206
26., 27. IV.	250 g Fleisch 50 g Reis	420	6,48	0,0469
8. V.	150 g Fleisch 50 g Reis	320	5,04	0,0432

Es ließ sich demnach im Tierversuch an den Hungertagen ein leichtes Herabgehen der Rhodanmenge im Harn nachweisen; keinesfalls trat eine Steigerung der Rhodanausfuhr ein. Finden wir demnach bei Krebskranken ein Ansteigen der Rhodanwerte im Harn, so ist die geringe Nahrungsaufnahme als ätiologischer Faktor jedenfalls unwahrscheinlich. Erhöhte Fleischkost war gleichfalls nicht von Einfluß auf die Rhodanausfuhr.

Ich habe in dem angeführten Tierversuch auch den Einfluß von Morphium auf die Rhodanausfuhr festzustellen gesucht,

da die Verwendung dieser Medikation bei den Krebskranken unausweichlich erschien. Ein Einfluß der Morphiumaufnahme auf die Rhodanausscheidung war nicht zu erkennen.

Eine Abhängigkeit der ausgeschiedenen Rhodanmenge von Anämie und Kachexie konnte ich nicht feststellen. So war von den Normalfällen Fall 9 sehr kachektisch und Fall 11 (Tab. III) sehr anämisch, ohne daß hohe Rhodanwerte sich fanden; desgleichen der carcinomverdächtige Fall 6 (Tab. II). Hingegen zeigte Fall 17 (Tab. II) — ein sicheres Magencarcinom — recht hohe Rhodanwerte ohne Spur von Kachexie und Anämie.

So finden wir denn — ebenso wie Salomon und ich dies für die Schwefelreaktion festgestellt hatten — die vermehrte Rhodanausscheidung weitgehend unabhängig von den Begleitsymptomen des Carcinoms, von der Nahrungsaufnahme, von Anämie und Kachexie, und wohl — wenn auch in weiteren Grenzen — vom Fieber.

Ich habe auch den Versuch gemacht, der Frage nachzugehen, woher das vermehrte Rhodan beim Krebskranken stammt. Diese Frage ist um so schwerer zu beantworten, als wir auch beim Normalen nicht wissen, wo die Quelle der Rhodanbildung gelegen ist. Vermutungsweise läßt sich für den Gesunden folgendes sagen. Erstens wurde von Bruylant angenommen, daß eine Beziehung der Rhodanbildung zum Purinstoffwechsel bestünde; daß insbesondere das Adenin eine Quelle der Rhodanbildung sein könnte. Eine Beziehung dieser Annahme zur Krebskrankheit läßt sich nicht herstellen.

Zweitens wissen wir (Lang, Hejmann[1]), daß Blausäureintoxikation beim Tier zu vermehrter Rhodanbildung führt, die als Entgiftungsvorgang aufzufassen ist; ob das normalerweise im Harn auftretende Rhodan auch aus dieser Quelle stammt, ist nicht bekannt. Drittens war folgende Möglichkeit zu erwägen. Es ist bekannt, daß Rhodan in manchen Dingen Ähnlichkeit mit Jod hat (E. Neubauer und O. Porges[2]).

Nun wissen wir fernerhin, daß ein Speicherungsvermögen der Carcinomgewebe für Jod besteht, und es war immerhin

[1]) Lang und Hejmann, l. c.

[2]) E. Neubauer und O. Porges, Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffw. 1910.

daran zu denken, ob durch eine derartige Aufspeicherung von Rhodan im Carcinomgewebe der gesamte Rhodanstoffwechsel nicht in jener Weise beeinflußt würde, wie wir sie de facto finden. Zur Entscheidung dieser Möglichkeit habe ich frisches Carcinomgewebe untersucht und fand in 70 g operativ gewonnenem, nicht ulceriertem Mammacarcinom 0,004 g Rhodan, verglichen mit der Ziffer Edingers für andere Gewebe[1]), keinen besonders hohen Wert. Ich arbeitete mit der von Edinger dort angegebenen, allerdings auch nicht völlig einwandfreien Methode, da hierbei wiederholt eingedampft werden muß. Ich führe hier zum Vergleich die Zahlen Edingers an:

Pankreas:	0,010 g Rhodan,
Niere:	0,007 g „
Schilddrüse:	0,002 g „
Speicheldrüse:	Außerordentlich geringe Menge.

Es ließ sich demnach keine Vermehrung des Rhodans im Carcinomgewebe feststellen. Demnach ist die Speicherung von Rhodan im Carcinom nicht erwiesen.

Es wurde in den oben gemachten Ausführungen des öfteren erwähnt, daß der von Salomon und Saxl im Harn Krebskranker vermehrt gefundene leicht oxydable Schwefel mit dem Rhodan zum mindesten größtenteils identisch sein dürfte, und es erübrigt noch, auf die Beziehungen der von uns so benannten „Schwefelreaktion im Harne Krebskranker" zu der hier nachgewiesenen vermehrten Rhodanmenge im Harne Krebskranker einzugehen.

Um was handelt es sich bei der „Schwefelreaktion?" Es wird in einem bestimmten Volumen Harn — in 100 ccm — nach vorherigem Ausfällen des sauren Schwefels ein Schwefelkörper nachgewiesen, der mit Wasserstoffsuperoxyd in geringer Konzentration oder durch Permanganat (Přibram) zu Sulfat oxydiert wird. Nun ist es bekannt, daß auch der Rhodanschwefel in dieser Weise zu Schwefelsäure oxydiert werden kann. Da ich nun in der vorliegenden Arbeit den Nachweis zu führen versuchte, daß die Rhodanausscheidung im Harne Krebskranker vermehrt ist, ist wohl anzunehmen, daß die

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 59, 227.

Schwefelreaktion zum mindesten teilweise ein Nachweis der Rhodanvermehrung im Harne ist.

Hierüber muß jedoch noch einiges bemerkt werden: Zunächst ist zu erwähnen, daß wir bei früheren orientierenden Beobachtungen gefunden haben, daß auch in der Oxyproteinsäurefraktion, die ja durch Äther-Alkohol-Fällung erhalten wird, der qualitative Nachweis von mit H_2O_2 leicht oxydierbarem S gelingt. Rhodan(barium) ist aber in Äther-Alkohol löslich. Es handelte sich offenbar in diesen Versuchen nur um beträchtliche Verunreinigung des grobflockigen Oxyproteinsäurenniederschlages mit mitgerissenem Rhodan; so konnte ich mich auch überzeugen, daß nach Rhodanverfütterung die bis dahin negative Eisenchloridreaktion in der Oxyproteinsäurefraktion positiv wird.

Ferner: Die Schwefelreaktion ist der Nachweis der Vermehrung von Rhodanschwefel in einem bestimmten Volumen Harn. Sie besagt also nur, daß im Harn bei positivem Ausfall der Reaktion eine größere Rhodankonzentration besteht als bei negativem Ausfall; sie besagt aber nichts über die ganze in der täglichen Harnquantität enthaltene Rhodanmenge.

Wir müssen daher von vornherein annehmen, daß die Schwefelreaktion nur dann positiv ausfällt, wenn im Harn die relative Rhodankonzentration eine hohe ist, wenn also in dem Harnvolumen von 100 ccm eine größere Rhodankonzentration vorhanden ist. Es sei hier bemerkt, daß Salomon und ich bereits in unserer ersten Mitteilung über die Schwefelreaktion die Beobachtung niederlegten, daß konzentrierte Harne Krebskranker eine besonders schöne Schwefelreaktion ergaben.

Wie aus der unten angeführten Tabelle V hervorgeht, wird die Schwefelreaktion bei einer Konzentration von 12 bis 15 mg Rhodan positiv. Carcinome zeigen zuweilen eine Rhodankonzentration von 25 mg Rhodan in 100 ccm Harn.

Diese Zahlen zeigen, daß die Harne Krebskranker im allgemeinen eine hohe relative Konzentration von Rhodan aufweisen; die Zahlen bei Normalen stehen hinter diesen Werten bedeutend zurück. Es geht ferner aus der Tabelle hervor, daß jene Fälle von Carcinom, die eine hohe relative Rhodankonzentration haben, auch eine positive „Schwefelreaktion“ zeigten. Damit scheint der Zusammenhang

zwischen dieser Schwefeloxydationsreaktion und der Vermehrung der Rhodanausscheidung erwiesen zu sein. Zu erwähnen wäre noch, daß Salomon und ich die Schwefelreaktion unabhängig von allen jenen Faktoren gefunden haben, die wir auch hier bei der Rhodanvermehrung berücksichtigt haben: Unabhängig von der Nahrungsaufnahme, Anämie, Kachexie usw. Über Fieber s. o.

Tabelle V.

Fall Nr.	Krankheit	Harnmenge	Rhodan in der Tagesmenge g	Rhodan in 100 ccm Harn g	Schwefelreaktion nach Salomon und Saxl
	A. Carcinome.				
1	Carcinoma ventriculi	1300	0,1964	0,0157	positiv
		1100	0,1765	0,0164	
2	Gallertkrebs des Peritoneums .	1200	0,1980	0,0165	„
		900	0,1964	0,0212	
		1450	0,2328	0,0159	
3	Carcinoma ventriculi	650	0,1458	0,0224	„
4	„ „	350	0,0746	0,0213	„
5	„ viar. hepatis . . .	600	0,1564	0,0260	„
6	„ ventriculi	1000	0,1124	0,0112	negativ
7	„ oesophagi	500	0,1024	0,0205	positiv
8	Drüsenrezidiv nach operativem Magencarcinom	1050	0,2045	0,0194	„
9	Carcinoma ventriculi	1200	0,1467	0,0122	negativ
10	„ „	1400	0,1084	0,0077	„
	B. Gesunde und Nichtkrebskranke.				
1	Myelogene Leukämie	1400	0,0987	0,0071	negativ
2	Pneumonia (hohes Fieber) . .	700	0,0805	0,0115	„
3	Vitium cordis	450	0,0584	0,0137	„
4	Cirrhosis hepatis	1200	0,0506	0,0042	„
5	Tuberculosis peritonei	1100	0,0558	0,0551	„
6	Ulcus ventriculi	1400	0,0564	0,0041	„
7	„ „	800	0,0325	0,0041	„
8	Lungentuberkul. (hohes Fieber)	1000	0,1365	0,0136	fraglich
9	Sepsis (Fieber)	1100	0,1122	0,0120	negativ
10	Cirrhosis hepatis et pancreatis (Cirrhose bronzée)	3000	0,2024	0,0067	„
11	Nephritis chronica	1000	0,0822	0,0082	„
12	Cirrhosis hepatis	700	0,0840	0,0120	„
13	Angina (hohes Fieber)	1000	0,0882	0,0088	„

Zusammenfassung.

1. Die Störungen im Eiweißstoffwechsel Krebskranker haben eine auffallende Ähnlichkeit mit jenen, die nach Verfütterung kleiner Rhodanmengen an gesunde Menschen auftreten; wir

finden bei beiden Zuständen eine vermehrte Ausscheidung von Ammoniak, Neutralschwefel, Oxyproteinsäuren im Harn; desgleichen läßt sich bei beiden Intoxikationszuständen im Harn eine starke Vermehrung des leicht oxydablen Schwefels feststellen.

2. Die quantitative Bestimmung der Rhodanausfuhr ergibt eine Vermehrung des Rhodans im Harn der meisten Krebskranken; wir fanden hier Werte, wie wir sie bei anderen Krankheiten niemals antrafen.

3. Die Vermehrung des Rhodans ist unabhängig von der Nahrungsaufnahme, Anämie und Kachexie; Fieber steigert zuweilen die Rhodanausfuhr, jedoch nicht in dem Ausmaße, als die Anwesenheit eines Carcinoms.

4. Die „Schwefelreaktion im Harne Krebskranker" (Salomon und Saxl) ist zum mindesten größtenteils ein Nachweis relativ erhöhter Rhodankonzentration im Harn.

Die Assimilation des im Ei enthaltenen Eiweißes durch den Hühnchenembryo.

Von

H. W. Bywaters.

(Aus dem Physiologischen Laboratorium der Universität Bristol.)

(Eingegangen am 25. Juli 1913.)

Die Erkenntnis, daß das Eiweiß und das Eigelb des Hühnereies die Reservestoffe für die Ernährung des Embryos bilden, führt weiter zu der Frage nach der Art und Weise, in der diese Nahrung den sich entwickelnden fötalen Geweben während der Bebrütungszeit zugeführt und von ihnen assimiliert wird. Nach Preyers[1]) Auffassung kann der Dotter direkt infolge Passage durch die Blutgefäßwandungen des Dottersacks ins Blut aufgenommen werden und als solcher in den Sitz der eigentlichen Wachstumsvorgänge gelangen. Er wurde demnach als ein Stoff angesehen, der „der unmittelbaren Absorption und Assimilation durch den Embryo fähig ist".

Jedoch besteht das Eigelb wesentlich aus Substanzen kolloidaler Natur und aus Emulsionen suspendierter Stoffe. Es scheint deshalb kaum wahrscheinlich, daß dies Material durch die Blutgefäßwände entgegen dem Druck des in ihnen fließenden Blutes hindurchzudringen vermag. Eine viel einleuchtendere Erklärung gibt Wohlgemuth[2]). Gestützt auf seinen Befund, daß das Eigelb proteolytische und lipolytische Enzyme enthält, gibt er der Vermutung Ausdruck, daß diese bei Bruttemperatur aktiviert werden und die kolloidalen Stoffe vor ihrer Absorption in diffusible überführen.

---

[1]) W. Preyer, Spez. Physiologie des Embryos. Leipzig 1885.

[2]) Wohlgemuth, Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 540, 1905.

In bezug auf das Eiereiweiß herrschte bis vor ganz kurzem die fast allgemeine Ansicht, daß es wie das Eigelb unmittelbar von den Blutgefäßen absorbiert wird. Wohlgemuth konnte jedoch weder eiweißspaltende noch andere Enzyme im Eiweiß finden, so daß wir in diesem Falle nicht zu der Annahme berechtigt sind, daß bei steigender, zur Bebrütung erforderlichen Temperatur eine damit einhergehende enzymatische Hydrolyse sich vollzieht, die die Überführung in diffusionsfähige Substanzen bewirkt.

Hirota[1]) behauptet, daß am 11. Inkubationstage eine Verbindung zwischen dem vom Amnion umschlossenen Raum und dem Eiweißsack mittels Durchbruch der serösen Hüllen und der Amnionhaut hergestellt wird. Auf diese Weise kann das Eiweiß in den vom Amnion umspannten Embryonalraum hineingelangen und zusammen mit dem Fruchtwasser gegen Ende der Inkubation absorbiert werden.

Im Widerspruch zu dieser Deutung lehrt aber die Beobachtung, daß gerade zu Beginn der Bebrütung das Eiweiß am schnellsten aufgebraucht wird, so daß am 11. Tage nur ein verschwindend kleiner Bruchteil davon übrig bleibt. Foster und Balfour[2]), die feststellen konnten, daß sogar schon am 3. Bruttage die Abnahme des Eiweißes „sehr auffällig" ist, neigen zu der Auffassung, daß die Blutgefäße das Eiweiß entweder direkt aufnehmen, oder aber, was wohl der Wahrscheinlichkeit näher kommt, das Eigelb absorbieren, das auf Kosten des Eiweißes immer wieder ersetzt wird. Wie dieser Ersatz zustande kommt, darüber geben die Autoren keinen Aufschluß.

Wenn man an die Erforschung dieser Frage vom biochemischen Standpunkt aus herantritt, so müssen drei Möglichkeiten, die den wirklichen Verhältnissen am nächsten stehen dürften, ins Auge gefaßt werden. Es sind dies:

1. Das Eiweiß wird als solches absorbiert.

2. Einige seiner Bestandteile gelangen auf eine, einige auf eine andere Weise zur Absorption.

---

[1]) Hirota, J. Coll. Sc. Imp. Univ. Japan 6, Teil 4, 1894.

[2]) Foster und Balfour, Elements of Embryology 1883.

3. Durch chemische Prozesse werden komplex gebaute Moleküle in einfache übergeführt, und diese erst sind absorbierbar.

Das Hühnereiweiß setzt sich hauptsächlich zusammen aus Wasser, Albumin (Ovoglobulin, Ovalbumin, Conalbumin), Ovomucoid, Zucker und Salzen. Irgendwelche Veränderungen im gegenseitigen Verhältnis dieser Stoffe zueinander können durch sorgfältige Analysen des Eiweißes nach verschieden langen Brutperioden festgestellt werden. Wenn die Absorption gemäß der ersten der drei aufgestellten Hypothesen erfolgt, so müßte die prozentuale Zusammensetzung des Eiweißes unverändert bleiben, wenn gemäß des anderen, so dürfen Verschiebungen in den Verhältnissen erwartet werden.

In den hier vorliegenden experimentellen Untersuchungen hat es sich um die Aufgabe gehandelt, den Prozentsatz von Albumin, Ovomucoid, freiem und gebundenem Kohlenhydrat in dem Eiweiß von Eiern nach verschieden langen Brutperioden zu ermitteln. Diese gefundenen Resultate wurden dann als Ausgangspunkt zur Erklärung herangezogen, auf welche Art und Weise das Eieralbumin absorbiert wird.

Experimentelles.

Die Eier wurden zu Anfang der Bebrütung und dann wieder am Ende kurz vor deren Analyse gewogen.

Zur Bestimmung der Komponenten des Eiweißes wurde die Eierschale mit Hilfe einer Schere in eine obere und eine untere Hälfte geteilt und das Eiweiß sorgfältig vom Dotter und Embryo abgetrennt. Darauf wurde das Eiweiß zweimal durch feines Leinen hindurchfiltriert, damit alle Zellmembranen zurückblieben und ein Teil (ungefähr 1 bis 2 g) zur Ermittelung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahls Methode abgewogen. Den Rest des Eiweißes verdünnte man nach Wägung mit 10 Volumina Wasser und kochte diese mit Essigsäure leicht angesäuerte Lösung. Wenn sie nach Entfernung des Niederschlags noch eine Spur trübe erschien, so war das ein Zeichen, daß die Ansäuerung nicht im richtigen Verhältnis erfolgt war. Zum Ausgleich wurden einige Tropfen Alkali oder Säure hinzugefügt, das Kochen wiederholt, bis die Flüssigkeit, in der das Gerinnsel enthalten gewesen war, vollständig klar und

durchsichtig ausfiel, also kein koagulierbares Protein mehr aufwies.

Die Lösung wurde nun heiß über einem Stück stärkefreies Leinen filtriert und der geronnene Niederschlag nach Auswaschen und Pressen wieder unter Zusatz von 100 bis 200 ccm Wasser aufgekocht. Nach Filtration wird der Vorgang wiederholt und die gewonnenen Filtrate vereinigt, gekocht, durch ein kohlenhydratfreies Filtrierpapier filtriert und auf ca. 250 ccm eingeengt.

Nachdem das Volumen auf genau 250 ccm gebracht ist, wurden 50 bis 100 ccm abpipettiert, fast bis zur Trockne eingedampft und der Ovomucoidstickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Den Rest dampft man auf 10 ccm ein und behandelt mit 100 ccm Alkohol (96%). Das Ovomucoid fällt als Niederschlag aus, während der freie Zucker in der Lösung bleibt, die man durch ein kohlenhydratfreies Filter abgießt. Das in der Verdampfungsschale niedergerissene Ovomucoid wird in 10 ccm Wasser noch einmal aufgelöst, durch Alkohol abermals ausgefällt und abfiltriert. Hierauf folgt Eindampfen der gesamten Filtrate auf kleines Volumen, Kochen mit Wasser und Alaunerde und Filtration bei erreichter gewünschter Menge (25 oder 50 ccm). Die Zuckerbestimmung im Filtrat geschieht mittels Pavyscher Lösung.

Das durch Behandlung mit Alkohol so von Zucker befreite Ovomucoid wird in 5%iger Salzsäure gelöst und stets am Rückflußkühler $1^1/_2$ Stunden lang gekocht. Nach der üblichen Behandlung mit Phosphorwolframsäure ermittelt man den noch vorhandenen Zucker auch hier mittels der Pavyschen Lösung.

Im Verlauf der Arbeit stellte es sich heraus, daß die Versuchsanordnung eine oder zwei Modifikationen zuläßt, ohne daß dadurch die Genauigkeit der Ergebnisse beeinträchtigt wird.

So habe ich die Beobachtung gemacht, daß man das Ei vor dem Öffnen kochen und die Analyse sowohl am geronnenen wie am ungeronnenen Eiweiß ausführen kann. Eier verlieren nach dem Kochen ganz wenig an Gewicht, wie schon Cook[1]) nachgewiesen hat, was wahrscheinlich auf der Extraktion

[1]) Cook (zitiert von Greenlee, Journ. Amer. Chem. Soc. **34**, 539, 1910).

gewisser Mineralbestandteile der Eierschale beruht. Drei Eier wurden gewogen, 15 Minuten lang im Wasserbade gekocht, dann abgekühlt und wieder gewogen.

Ei	Gewicht vor dem Kochen g	Gewicht nach dem Kochen g	Verlust g
1	55,57	55,48	0,09
2	53,81	53,69	0,12
3	49,50	49,41	0,09

Um zu zeigen, daß die Bestandteile des Eiweißes ohne Unterschied am geronnenen und ungeronnenen analytisch ermittelt werden können, führen wir als Beispiel einen der ausgeführten Versuche an: Das Eiweiß zweier Eier wurde miteinander vermischt, durchgeseiht und eine abgewogene Menge sofort nach der oben beschriebenen Methode analysiert. Der restierende Teil dagegen wurde in eine kleine Flasche gegossen, gewogen, luftdicht abgekocht, zum Gerinnen gebracht und dann der Analyse unterzogen. Der Vergleich der erzielten Resultate weist praktisch keinen Unterschied auf.

	Ungeronnenes Eiweiß %	Geronnenes Eiweiß %
Albumin-N	1,82	1,86
Ovomucoid-N	0,31	0,32
Ungebundener Zucker .	0,32	0,31

Wollen wir nun zu einer kritischen Betrachtung der Ergebnisse übergehen, die wir durch Analyse des Eiweißes von bebrüteten Eiern erhalten haben, so müssen wir zunächst feststellen, ob irgendeine Verschiebung im Verhältnis zwischen

1. den Eiweißkörpern selbst,
2. den Eiweißkörpern und Kohlenhydraten im Eiweiß der Eier stattgefunden hat.

In der ersten Untersuchungsreihe[1]) waren die ermittelten Werte folgende:

[1]) Proceed. of the Physiol. Soc. 45, 1913.

Verhältnis zwischen koagulierbarem Protein (Albumin usw.) und unkoagulierbarem (Ovomucoid) im Eiereiweiß nach verschieden langen Brutzeiten (befruchtete Eier).

Zahl der Bruttage	A. Albumin-N ausgedr. in g auf 100 ccm Eiereiweiß	B. Ovomucoid-N ausgedr. in g auf 100 ccm Eiereiweiß	Verhältnis B : A
0	1,62	0,27	0,17
1	1,68	0,26	0,15
3	2,02	0,33	0,16
5	3,22	0,53	0,16
7	4,81	0,65	0,13
11	3,13	0,49	0,15
13	4,73	0,60	0,13
15	9,08	1,61	0,18
18	4,47	0,78	0,18

Das Eiweiß in einem 15 Tage lang bebrüteten Ei war fast von fester Konsistenz, und der Gehalt an Albumin und Ovomucoid ist dementsprechend ein ungewöhnlich hoher, doch bleibt das gegenseitige Verhältnis so gut wie unverändert.

Hier folgen die Resultate einer zweiten Versuchsreihe:

Zahl der Bruttage	A. Albumin-N g	B. Ovomucoid-N g	Verhältnis B : A
0	1,70	0,21	0,12
3	2,16	0,26	0,12
6	3,92	0,54	0,14
6*[1])	4,34	0,47	0,11
9	4,70	0,57	0,12
11	5,36	0,56	0,10
16	4,16	0,46	0,11
16*	2,47	0,30	0,12

Aus beiden Reihen erhellt, daß das Verhältnis zwischen gerinnendem und nicht gerinnendem Eiweiß konstant bleibt. In anderen Worten: die Menge des Ovomucoids macht einen konstanten Bruchteil des gesamten vorhandenen Proteins aus. Das besagt, entweder werden die verschiedenen Proteine zu gleichen Teilen verbraucht, oder es besteht ein Gleichgewicht, das durch die Gleichung:

$$\text{Ovomucoid} \rightleftarrows \text{Albumin} + \text{Kohlenhydrat}$$

verbildlicht wird. Diese letztere Annahme eröffnet die Möglichkeit, daß die Kohlenhydratgruppen nicht auf einmal, son-

[1]) Die mit * bezeichneten Eier wurden vor dem Eröffnen gekocht.

dern stufenförmig vom Ovomucoid abgesprengt werden, so daß hierdurch Mucoidkörper mit wechselndem Kohlenhydratgehalt resultieren. Jedoch konnte festgestellt werden, daß aus Eiereiweiß isoliertes Ovomucoid in verschiedenen Stadien der Hühnchenentwicklung fast dasselbe Verhältnis an Kohlenhydrat aufwies, wie sich aus der folgenden Tabelle der aus zwei oder mehr Bestimmungen erhaltenen Durchschnittswerte ergibt:

Verhältnis des Ovomucoids zu dem in ihm nach verschieden langer Inkubationszeit enthaltenen Kohlenhydrat.

Bruttage	A. Ovomucoid ausgedr. in g N auf 100 g Eiereiweiß	B. In Ovomucoid enthalt. Kohlenhydrat, ausgedr. in g Glucose auf 100 g Eiereiweiß	Verhältnis A : B
0	0,27	0,42	1,6
1	0,26	0,40	1,5
3	0,30	0,33	1,3
5	0,53	0,76	1,4
6	0,51	0,67	1,3
7	0,65	1,30?	2,0?
9	0,57	0,83	1,5
11	0,41	0,63	1,5
13	0,60	1,43?	2,4?
18	0,78	1,29	1,7

Wenn auch die Eiweißstoffe in gleicher Menge zum Verbrauch herangezogen werden, so schließt diese Tatsache nicht aus, daß sie vorher in diffusible Substanzen, vielleicht durch das Eingreifen gewisser vom Foetus selbst gelieferten Enzyme übergehen. Aus dem Pflanzenreich wissen wir, daß zur Zeit der Samenkeimung der Keimling Enzyme absondert, die in die umgebenden Gewebe dringen und die komplexen abgelagerten Reservenahrungsstoffe in einfache diffundierende Substanzen abbauen. Nach dieser Umwandlung stehen sie dann zur Aufnahme und Ausnutzung für die Wachstumsvorgänge des Embryos bereit. Analog können wir uns denken, daß bei Bruttemperatur vom Vogelembryo sezernierte Fermente in Freiheit gesetzt werden, die die Spaltungsprozesse des Eiweißes in Gang bringen und erhalten. Deren Endprodukte sind nun die erforderlichen diffusiblen Stoffe aus den kolloidalen Proteinen der gespeicherten Vorratsnahrung des Hühnchens.

Die Ergebnisse in bezug auf das Verhalten der Kohlenhydratfraktionen des Hühnereiweißes während der Bebrütung

weichen von den bisher mitgeteilten ab. Ungebundener Zucker ist meistens bis zum 6. Tage in bestimmbarer Menge aufzufinden, während er nachher, wenn überhaupt, nur noch in der Analyse entgehenden Spuren auftritt[1]).

Ein auffallender Unterschied in dieser Beziehung ist bei angegangenen und nicht angegangenen Eiern zu beobachten. Er ist sofort aus den im folgenden aufgeführten Zahlen ersichtlich, die in mehreren Fällen das Mittel von zwei oder mehr Bestimmungen darstellen.

Menge von ungebundenem Zucker im Eiweiß von a) angegangenen, b) nicht angegangenen Eiern nach verschieden langen Brutzeiten:

Zahl der Bruttage	Gehalt ungebundenen Zuckers (Glucose) im Eiweiß von	
	a) angegangenen Eiern %	b) nicht angegangenen Eiern %
0	0,32	0,35
1	0,30	—
3	0,21	0,35
5	0,22	0,32
6	0,06	—
7	0	—
9	0	0,35
11	0	0,53
13	0	0,38
16	0	0,43
18	0	0,34
22	—	0,32
29	—	0,42

Man ersieht aus der Tabelle, daß die Gegenwart von Zucker in sterilen Eiern sogar nach 29 tägiger Bebrütung festgestellt werden konnte, daß er in angegangenen hingegen schon nach 6 Tagen verschwunden ist. Daraus läßt sich der berechtigte Schluß ziehen, daß einer der ersten Vorgänge während der Bebrütung die Assimilation des im Eiweiß ungebundenen Zuckers ist. Wahrscheinlich wird der Zucker in die Blutgefäße des Dottersacks unter gleichzeitiger Wasseraufnahme absorbiert.

Obgleich fertile sowohl wie sterile Eier durch Verdampfen Wasser und infolgedessen ungefähr proportional an Gewicht

[1]) Drei Ausnahmefälle sind im Verlaufe dieser Untersuchungen zu konstatieren gewesen. In einem fanden sich 0,13% Zucker im Eiweiß eines 11 Tage, im andern sogar 0,48% eines 15 Tage alten Eies.

verlieren[1]), wird das Eiweiß der ersteren viel schneller fest als dasjenige der letzteren, wovon man sich durch den Augenschein überzeugen kann. Öffnet man Eier z. B. nach 8 Bruttagen, so findet man noch 20 bis 25 ccm Eiweiß im nicht angegangenen Ei, dagegen im angegangenen nicht mehr als 5 ccm. So geht ein Verlust von Wasser nicht nur durch Verdampfung vonstatten, sondern auch bei Eiern mit eingetretener Entwicklung durch Verbrauch von seiten des Embryos. Möglicherweise ist vorher schon ein Teil des Wassers in das Eigelb übergegangen, wie Greenlee[2]) auch bei konservierten Eiern beobachtet hat.

In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit teilt Anno[3]) mit, daß eine rapide Milchsäureentwicklung zu Beginn der Bebrütung vor sich geht. Die Ausbeute an Zinklactat aus dem Eiweiß von 4 Tage lang bebrüteten Eiern stieg bis auf 0,2%, welche Menge ungefähr 0,13% Milchsäure entspricht. Es ist denkbar, daß auch der verschwindende Zucker zum Teil die Quelle der Säure darstellt.

Zum Schluß möchte der Verfasser bei dieser Gelegenheit Herrn Dr. Barrett Roue für seine wertvolle Hilfe bei dem analytischen Teil dieser Mitteilung und der Colston Research Society für eine materielle Unterstützung zur Ausführung der Arbeit seinen Dank aussprechen.

Zusammenfassung.

Im fruchtbaren Ei macht die Menge des Ovomucoids während der Bebrütung immer einen konstanten Bruchteil des gesamten vorhandenen Proteins aus.

Im Kohlenhydratgehalt des Ovomucoids tritt während der Brutzeit keine Veränderung ein. Die Menge des ungebundenen Zuckers nimmt beim angegangenen Ei rapide ab und ist nach dem 6. Tage nicht mehr nachweisbar. Bei sterilen Eiern dagegen verschwindet der Zucker nicht. Verschiedene Ansichten über die Assimilationsweise des Eiereiweißes durch den Hühnchenembryo werden auseinandergesetzt und kritisch erörtert.

[1]) Bywaters und Roue, Proc. Physiol. Soc. 1913.
[2]) Greenlee, Journ. Amer. Chem. Soc. 34, 539, 1912.
[3]) Anno, Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 237, 1912.

Über die Fällung der Purinbasen durch Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn.

Von
E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 3. August 1913.)

Vor einigen Monaten habe ich kurz erwähnt[1]), daß der aus Harn durch Zinksalze bei genau neutraler Reaktion erhaltene Niederschlag nicht allein die Harnsäure, sondern auch die Purinbasen des Harns so gut wie vollständig enthält, indem ich dabei auf eine zum Druck gegebene ausführlichere Arbeit verwies.

Es war vorauszusehen, daß dies auch für die Purinbasen des Fleischextraktes gelten werde, und es fragte sich, ob dieses Verhalten nicht für die Darstellung der Purinbasen vorteilhaft Anwendung finden könne.

Die Versuche hierüber haben folgendes ergeben.

Wenn man eine etwa $10\,^0/_0$ige Lösung von Fleischextrakt durch Fällung mit NH_3 und $CaCl_2$ von Phosphorsäure befreit, das Filtrat mit HCl neutralisiert, dann mit Chlorzinklösung verversetzt, dabei mit Na_2CO_3 genau neutrale oder schwach alkalische Reaktion herstellend, so erhält man einen ziemlich reichlichen Niederschlag, der sich leicht abfiltrieren und gut auswaschen läßt.

Suspendiert man diesen Niederschlag in viel Wasser, zersetzt ihn heiß mit Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat vom Schwefelzink auf dem Wasserbad ein, so ergibt sich ein bräunlich gefärbter, ziemlich spröder Rückstand, der im wesentlichen aus Albumosen resp. albumoseartigen Substanzen be-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 346.

steht, wie sein Verhalten zu gesättigter Kochsalzlösung in mit Essigsäure angesäuerter Lösung zeigt. (Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst, beim Erkalten wiederkehrt.) Purinbasen sind in demselben, wie das Verhalten der mit NH_3 alkalisierten Lösung zur Silbernitratlösung zeigt, scheinbar kaum vorhanden.

Löst man den Zinkniederschlag in verdünnter Essigsäure, zersetzt mit H_2S, dampft wiederum das Filtrat vom Schwefelzink ein, so erhält man einen an Menge erheblicheren Rückstand von mehr weicher Beschaffenheit, gleichfalls albumoseartiger Natur, der übrigens ebenso wie der ohne Essigsäure erhaltene nur recht schwache Biuretreaktion gibt. Auch in der Lösung dieses Rückstandes sind Purinbasen durch Zusatz von NH_3 und $AgNO_3$ nur eben nachweisbar.

Es könnte danach scheinen, als ob Zinksalze aus Fleischextrakt nur äußerst wenig Purinbasen ausfällen, ganz überwiegend vielmehr N-haltige kolloidale Substanzen. Dem ist jedoch nicht so, es läßt sich auf einem anderen Wege zeigen, daß in dem Zinkniederschlag reichlich Purinbasen enthalten sind, nämlich indem man denselben in verdünnter heißer Salpetersäure und etwas Harnstoff löst, abkühlt und mit Silbernitratlösung versetzt; es scheidet sich dann Hypoxanthinsilber bzw. ein Gemisch von diesem mit salpetersaurem Hypoxanthinsilber als schneeweißer Niederschlag aus.

Das scheinbar negative Resultat in den Filtraten von der Zersetzung des Zinkniederschlags erklärt sich sehr einfach.

Schon vor langen Jahren[1]) habe ich darauf hingewiesen, daß die Anwesenheit von Leim in Hypoxanthinlösungen die Ausfällung desselben durch Silberlösungen vollständig verhindern kann. Eine gleiche Beobachtung hat E. Drechsel[2]) für eine „durch Kochen von Fibrin im Dampftopf erhaltene syntoninhaltige Lösung" gemacht und G. Salomon[3]) für „gut gereinigtes, aus Fleisch, Eiereiweiß oder Fibrin bereitetes Pepton, das mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag gibt", wenigstens bei einer gewissen Konzentration. Die gleiche Eigenschaft kommt nach A. Kossel[4]) in hervorragendem Grade

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **4**, 94.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **18**, 240, 1880.
[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **18**, 1162.
[4]) Zitiert nach Goto, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 473.

den Nucleinsäuren zu. Dem entspricht auch, daß Silberlösung in einer mit Ammoniak versetzten und dann filtrierten Fleischextraktlösung überhaupt keinen Niederschlag gibt, sondern nur eine diffuse, nicht filtrierbare Trübung, aus der sich erst beim Stehen bis zum nächsten Tage eine geringe Menge eines bräunlichen Niederschlages absetzt. Die allgemein zur Darstellung der Purinbasen aus Fleischextrakt übliche Fällung desselben mit basischem Bleiacetat und Entfernung des Bleies aus dem Filtrat durch H_2S beruht augenscheinlich auf der Entfernung dieser „störenden Substanzen".

Durch das — so viel ich weiß von mir eingeführte — Verfahren der vorgängigen Erhitzung der Fleischextraktlösung mit Salpetersäure werden diese störenden Substanzen zerstört oder doch soweit verändert, daß sie nicht mehr stören. Indessen kommt bei diesem Verfahren wahrscheinlich auch die Spaltung der Inosinsäure in Betracht; wenigstens spricht dafür die bekannte Tatsache, daß man nach dem Verfahren des Erhitzens der Fleischextraktlösung mit Salpetersäure mehr Hypoxanthin erhält, als nach dem Bleiessigverfahren.

Diesen Überlegungen entsprechend, mußten nun auch die den erwähnten von der Zersetzung der Zinkniederschläge mit H_2S erhaltenen Filtrate Purinbasen in „maskierter" oder, wie ich mich für die Organauszüge überhaupt bei den Autolyseversuchen ausgedrückt habe, „latenter Form" enthalten. Das ist nun auch in der Tat der Fall: man erhält aus denselben, wenn man sie vorher mit Salpetersäure behandelt hat, reichlich Purinbasen. Die Zinksalze haben also als Fällungsmittel für Purinbasen vor den Silbersalzen das voraus, daß eine vorgängige Behandlung des Untersuchungsobjektes — sei es durch Bleiessig, sei es durch Salpetersäure — nicht erforderlich ist. Streng genommen ist freilich nicht bewiesen, daß die durch Zinksalze erhaltenen Niederschläge wirklich nur Gemische der Zinkverbindungen der Purinbasen und Albumosen sind, es liegt immerhin die Möglichkeit vor, daß die Niederschläge gar nicht Zinkverbindungen der Purinbasen enthalten, sondern komplexe Verbindungen, aus denen erst durch die Einwirkung der Salpetersäure Purinbasen frei werden. Diese Frage weiter zu untersuchen, möchte ich mir vorbehalten.

Wenn man nun daran denken will, die Zinkfällung als Darstellungmethode zu benutzen, so handelt es sich um zwei Vorfragen: 1. Ist die vorgängige Ausfällung der Phosphorsäure entbehrlich? 2. Ist die Ausfällung der Purinbasen, sei es als solche, sei es als komplexe Verbindung, einigermaßen vollständig? Beide Fragen sind zu bejahen. Die aus Fleischextraktlösungen direkt erhaltenen Niederschläge liefern ebensogut Purinbasen wie die nach vorheriger Entfernung der Phosphorsäure erhaltenen, und in den Filtraten von den Zinkfällungen sind nach dem Erhitzen mit Salpetersäure nur minimale Quantitäten von Purinbasen nachweisbar.

Danach empfehle ich das Zinkverfahren zur Darstellung der Purinbasen, speziell des Hypoxanthins aus Fleischextrakt. Es hat vor dem Bleiessigverfahren den Vorzug größerer Einfachheit, vor dem Salpetersäureverfahren den Vorzug, daß es nicht wie dieses ein gelb gefärbtes Produkt liefert.

Eine nebenher gemachte Beobachtung möchte ich nicht ganz unerwähnt lassen. Wenn man den aus einer klar filtrierten Fleischextraktlösung hergestellten Zinkniederschlag in verdünnter Salpetersäure unter Erwärmen löst und die Lösung stehen läßt, so scheidet sich am Boden des Gefäßes ein weißer Niederschlag von koaguliertem Eiweiß aus.

Es ist nach dem Verfahren der Darstellung des Fleischextraktes schwer abzusehen, wie die filtrierte Lösung desselben noch durch Salpetersäure fällbares Eiweiß enthalten kann.

Ich vermute, daß die Eiweißausscheidung von dem Gehalt des Fleischextrakts an Nucleoproteiden abhängt, wenigstens zeigen die Nucleoproteide aus Pankreas, Leber, Milz beim Lösen in verdünnter Salpetersäure unter Erwärmen dasselbe Verhalten, allerdings möchte ich mich über diesen Punkt mit einigem Vorbehalt aussprechen, da mir immerhin die Möglichkeit, daß die angewendeten Präparate selbst etwas Eiweiß enthielten, nicht ganz ausgeschlossen erscheint.

Die Fällbarkeit der Purinbasen könnte nun in analytischer Beziehung für die Bestimmung der Albumosen in Fleischextrakt und Organauszügen überhaupt in Betracht kommen. Nach den Angaben von A. Bömer[1]) bzw. K. Baumann und

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. **34**, 562, 1895.

A. Bömer[1]) soll man der Flüssigkeit, deren Albumosegehalt man bestimmen will, auf 100 ccm 2 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 Vol. H_2SO_4 auf 4 Vol. H_2O) hinzusetzen und sie dann mit Zinksulfat sättigen.

Es liegt nun die Vermutung nahe, daß durch das Zinksulfat auch die Purinbasen ausgefällt werden könnten, deren N-Gehalt dann fälschlich als Albumosen-N erscheinen würde.

Diese Befürchtung ist indessen unbegründet. Verfährt man in der angegebenen Weise mit ca. 10%iger Fleischextraktlösung, so enthält das Filtrat nach dem Erhitzen mit Salpetersäure reichlich Purinbasen. Der Nachweis, daß unter diesen Umständen nichts von den Purinbasen gefällt wird, ist bei den großen Mengen Zink, die der mit konzentrierter Zinksulfatlösung gewaschene Niederschlag enthält, einigermaßen schwer zu führen. Allerdings erhält man durch Auflösen des Niederschlags in Salpetersäure, Übersättigen mit Ammoniak resp. Natronlauge und Ammoniak und Zusatz von Silbernitrat ein negatives Resultat, indessen ist dieses bei den entstandenen großen Flüssigkeitsvolumina kaum als beweisend zu betrachten. Man muß das Zink durch Schwefelwasserstoff aus der mit Natriumacetat versetzten essigsauren Lösung des Niederschlags entfernen, und das gelingt bei den großen Mengen Zink nur schwierig, indessen schließlich doch, und man kann sich auch auf diesem Wege überzeugen, daß unter den Umständen des Versuches der Zinkniederschlag keine Purinbasen enthält.

Ja, selbst wenn man nicht mit Schwefelsäure ansäuert, genügt anscheinend die bei der Fällung mit Zinksulfat auftretende Acidität, um eine Ausfällung von Purinbasen zu verhindern.

Ich bemerke noch, daß die einzelnen Versuche mit 200 oder 400 ccm 10%iger Fleischextraktlösung angestellt sind.

Was nun die Zusammensetzung des Zinkniederschlags aus Harn betrifft, so gelangen Thar und Beneslawski[2]) zu folgendem Schlußsatz:

„Indem wir die Frage nach der Existenz einer kolloidalen Stickstoffverbindung im normalen Menschenharn offen lassen,

[1]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 1, 106, 1898. — Vgl. auch meine Mitteilung über die quantitative Bestimmung des Peptons neben Albumosen in dieser Zeitschr. 32, 350.

[2]) Diese Zeitschr. 52, 438.

können wir auf Grund unserer Untersuchungen sagen, daß der Stickstoff des durch Zinksulfat aus normalem Menschenharn erzeugten Niederschlags aus Harnsäure und Purinbasen besteht, die Spuren von Harnstoff, Ammoniak und den übrigen Harnbestandteilen enthalten."

Es ist mir unverständlich, wie die russischen Autoren dazu gelangen, diesen gesperrt gedruckten und mit einer gewissen Emphase vorgetragenen Schlußsatz als Resultat ihrer Untersuchungen zu bezeichnen, wodurch der Schein erweckt wird, als ob ich diese Bestandteile des Zinkniederschlages übersehen hätte. Das ist eine vollständige — ich will einmal milde sagen — Verkennung der Sachlage.

Kojo[1]), den die Autoren selbst zitieren, hat ja schon den Harnsäuregehalt des Zinkniederschlags publiziert, Kashiwabara[2]) darauf ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure begründet, später hat es sich gezeigt, daß die Fällbarkeit der Harnsäure aus dem Harn durch Zinksalze schon vor langen Jahren von Siegfried beobachtet worden ist. Wie können die Autoren also diesen Befund als aus ihren Untersuchungen hervorgehend bezeichnen? Das ist mir gänzlich unverständlich. Und ebenso ist es mit den Purinbasen. Die Fällbarkeit derselben und den Gehalt des Zinkniederschlags aus Harn an diesen habe ich[3]) auch schon kurz publiziert.

Als neu bleibt also nur die Angabe der Autoren, daß der Zinkniederschlag „Harnstoff, Ammoniak und die übrigen Harnbestandteile" enthalte. Daß er unter Umständen diese enthalten kann, ist mir nicht zweifelhaft, ich will sogar gern glauben, daß es bei größeren Mengen des Niederschlages nicht gelingt, dieselben ganz auszuwaschen; daß es aber auch bei der angewendeten kleinen Menge von 100 ccm Harn nicht gelingen sollte, die gelösten Harnbestandteile ganz auszuwaschen, muß ich bestreiten. Unter diesen Umständen erscheint es mir auch nicht richtig, diese Harnbestandteile, die dem Niederschlag anhaften können, aber nicht notwendig müssen, als Bestandteile des Zinkniederschlags aufzuführen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 432.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 84, 223.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 346.

Beiträge zur Kenntnis der Chemie der Krebstumoren.

Von

B. Wolter.

(Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin, Petersburg.)

(Eingegangen am 4. August 1913.)

Neben einer verhältnismäßig ausführlichen Literatur über die Anatomie, Hystologie und die Fermente verschiedener Neubildungen stehen die chemischen Untersuchungen derselben ziemlich vereinzelt[1]).

Eine genauere Prüfung der Asche menschlicher Krebstumoren verdanken wir S. Beebe[2]), der die auffallendste Veränderung gegen die Norm im Verhältnis der Alkali- zu den Erdalkalimetallen feststellte. Das Verhältnis von Na : Ca und K : Ca hat sich als abhängig von dem Zustande erwiesen, in dem sich die Geschwülste befinden. Eine Ergänzung erfuhren Beebes Untersuchungen durch die Beobachtungen von Clowes und Frisbie[3]). Über die organischen Bestandteile der Krebstumoren liegen hauptsächlich Beobachtungen über die Nucleinsubstanzen vor [Petry[4]), Neuberg[5]), Bang[6]) u. a.]. Von den übrigen Gewebsbestandteilen sind noch die Fette, Lipoide und das Cholesterin untersucht [Bossart[7]), Gideon Wells[8])]. In der Zu-

[1]) Literatur s. ausführlich bei C. Neuberg, Chem. Pathologie d. Krebse u. Dyskrasie. Zeitschr. f. Krebsforsch. **10**, 55, 1910.

[2]) Journ. of Physiol. **11**, **12**, **13**, 1904 bis 1905; Proc. of the New York Path. Soc. **4**, 109, 1905.

[3]) Journ. of Physiol. **14**, 1905.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**, 398, 1899.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. **1905**, Nr. 5.

[6]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 362, 1904.

[7]) Diss. Basel 1902.

[8]) Journ. of med. res. **17**, 461, 1908.

sammensetzung der aus Carcinomzellen dargestellten Eiweißkörper sind mit wenigen Ausnahmen keine wesentlichen Unterschiede gegenüber normalem Material beobachtet worden. Da irgendwelche sicheren chemischen Unterschiede zwischen den verschiedenen Formen bösartiger Geschwülste noch nicht bekannt sind, zeigen die vorliegenden Beobachtungen doch, daß offenbar große Abweichungen im chemischen Bau der Tumoren bestehen können, wie es aus erheblichen Differenzen im anatomischen Bilde und klinischem Verlauf hinreichend bekannt ist, und deshalb dürften systematische Untersuchungen bei verschiedenen Tumoren am Platze sein. Ganz besonderes Interesse für zahlreiche pathologische Erscheinungen bietet die Gruppe der Lipoide (resp. Phosphatide) und der Fettgehalt, berechnet aus Resultaten der Verseifungsmethode.

Als Untersuchungsmaterial für vorliegende Mitteilung dienten Tumorknoten und die nebenliegenden makroskopisch normalen Teile eines primären Carcinoms der Leber. Die Leber war enorm groß und von Carcinomknoten so durchsetzt, daß nur mit großer Mühe makroskopisch normale Teile isoliert werden konnten.

Hystologisch bestand die Geschwulst aus nicht degenerierten Zellen und reichlich vorhandenem Bindegewebe.

Die sorgfältig isolierten Carcinomknoten und nebenliegenden makroskopisch normalen Teile wurden in einer Hackmaschine zerkleinert und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet. Dieses getrocknete, ca. 5 bis 6% Wasser enthaltende Material diente zu allen Bestimmungen, mit Ausnahme der Fettbestimmung, die direkt in frischem Material nach der Verseifungsmethode von Kumagawa und Suto vorgenommen wurde. Der Wassergehalt wurde in besonderen Portionen bestimmt und die Resultate auf frische und konstant getrocknete Substanz berechnet.

Der Gesamtphosphor wurde nach der Veraschungsmethode von Neumann, der anorganische nach Stutzer und der Proteid-P nach Kossel bestimmt, wobei der Lipoidphosphor nicht nach Kossel mit siedendem Alkohol und Äther ausgewaschen wurde, sondern das im Heißextraktionsapparat vollständig lipoidphosphorfrei extrahierte Organ wurde mit verdünnter Salz-

säure nach Kossel bearbeitet und im Rückstand der Proteidphosphor nach Neumann bestimmt.

Das zur Lipoidphosphorbestimmung getrocknete Organ (3 bis 4 g) wurde in einem Heißextraktionsapparate im Laufe von 12 Stunden mit absolutem Alkohol auf einem Sandbade extrahiert, der Alkohol abdestilliert, der Kolben mit dem trockenen Alkoholextrakt in einem Vakuumexsiccator über Chlorcalcium 24 Stunden getrocknet, das Extrakt mit frisch über Natrium destilliertem absolutem Äther aufgenommen, durch ein Asbestfilter filtriert, der Äther abdestilliert und im Rückstand der Phosphor nach Neumann bestimmt. Da die Berechnung des Phosphatidphosphors auf Lecithin oder ein anderes Phosphatid nicht richtig und eine exakte Methode zur quantitativen Betimmung dieses oder jenes Phosphatids fehlt, begnügten wir uns mit der quantitativen Bestimmung der gesamten Lipoidphosphormenge. Eine weitere Extraktion des Organs mit Alkohol und Äther im Laufe von 6 Stunden gab keinen Lipoidphosphor, was außerdem aus den beiden übereinstimmenden Analysen vorauszusehen war.

Wassergehalt der Carcinomknoten 82,33%,

Wassergehalt der nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteile 79,34%.

Bestimmung der höheren Fettsäuren nach Kumagawa und Suto in Carcinomknoten.

	Menge des Organs g	Fettsäuremenge g	In Prozent auf das frische Gewebe	Im Durchschnitt	In Prozent auf Trockensubstanz berechnet	Im Durchschnitt
I. Analyse	5,72	0,0958	1,67	1,67	9,48	9,49
II. „	11,28	0,1898	1,68		9,51	
In nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteilen.						
I. Analyse	3,78	0,0648	1,71	1,77	8,30	8,60
II. „	4,15	0,0764	1,84		8,91	

Wie wir sehen, sind im Gehalt der Carcinomknoten und der nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteile an höheren Fettsäuren keine sicheren Unterschiede zu notieren.

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in Carcinomknoten.

	Menge des Organs g	Stickstoffmenge mg	In Prozent auf trockene Substanz berechnet	Im Durchschnitt	In Prozent auf d. frische Gewebe berechnet	Im Durchschnitt
I. Analyse	0,1815	24,0	13,22	13,15	2,34	2,32
II. „	0,1804	23,6	13,08		2,31	
In nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteilen.						
I. Analyse	0,1811	24,0	13,25	13,22	2,67	2,70
II. „	0,2962	39,1	13,20		2,73	

Im Stickstoffgehalt der Carcinomknoten und der nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteile sehen wir ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede.

Phosphorbestimmungen in Carcinomknoten.

		Menge des Organs g	P_2O_5 mg	P_2O_5 auf Trockensubstanz %	Im Durchschnitt	P_2O_5 auf frische Gewebe %	Im Durchschnitt	Vom Gesamtphosphor kommen auf %
Gesamtphosphor	I. Analyse	0,4350	9,7336	2,21	2,20	0,42	0,41	—
	II. „	0,4806	10,5244	2,19		0,41		
Anorgan. Phosphor	I. „	1,8098	15,8560	0,88	0,90	0,16	0,16	40,91
	II. „	1,8098	16,7376	0,92		0,16		
Phosphatidphosphor	I. „	3,6196	12,9336	0,36	0,36	0,06	0,06	16,28
	II. „	3,6196	12,9336	0,36		0,06		
Proteidphosphor	I. „	3,6196	21,3024	0,59	0,58	0,10	0,10	26,70
	II. „	3,6196	20,9220	0,58		0,10		
In nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteilen.								
Gesamtphosphor	I. Analyse	0,4562	11,4120	2,54	2,54	0,52	0,51	—
	II. „	0,4282	10,6512	2,54		0,51		
Anorgan. Phosphor	I. „	1,6811	16,4840	1,00	1,00	0,20	0,20	39,37
	II. „	1,3520	verunglückt			—		
Phosphatidphosphor	I. „	1,3520	7,6080	0,56	0,56	0,12	0,12	22,04
	II. „	1,3520	verunglückt			—		
Proteidphosphor	I. „	1,3520	10,0172	0,74	0,75	0,15	0,15	25,59
	II. „	1,3520	10,2708	0,76		0,16		

Wir sehen in dieser eben angeführten Tabelle den Phosphorgehalt der Carcinomknoten im Vergleich zu den nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteilen vermindert, und

dieser Mindergehalt bezieht sich hauptsächlich auf den Lipoid- und Proteidphosphor. In der Verteilung des Phosphors auf die einzelnen Gruppen sehen wir ebenfalls einen geringeren Gehalt der Carcinomknoten an Lipoidphosphor.

In folgender Tabelle ist der Phosphorgehalt der Carcinomknoten, der nebenliegenden makroskopisch normalen Leberteile und der normalen Menschenleber[1]) zusammen dargestellt.

	Auf trockene Substanz berechnet			Vom Gesamtphosphor kommen auf		
	in Carcinomknoten %	in nebenlieg. Leberteilen %	in normaler Leber %	Carcinomknoten %	nebenlieg. Leberteile %	normale Leber %
Gesamtphosphor .	2,20	2,54	2,35	—	—	—
Anorgan. Phosphor	0,90	1,00	0,90	40,91	39,37	38,29
Phosphatidphosphor	0,36	0,56	0,58	16,28	22,04	24,68
Proteidphosphor .	0,58	0,75	0,47	26,70	25,59	20,00

Wir sehen, daß vom Gesamtphosphor der normalen Leber 24,68% auf den Phosphatidphosphor kommen, in den makroskopisch normalen Leberteilen beim Carcinom finden wir 22,04%, in Carcinomknoten nur 16,28%, d. h. es handelt sich hier um eine deutliche Abnahme des Phosphatidphosphors um 8,40%. Für den Proteidphosphor finden wir in der normalen Leber 20% des Gesamtphosphors, in den makroskopisch normalen Leberteilen beim Carcinom 25,59% und im Carcinomknoten 26,70%, d. h. eine deutliche Zunahme des Proteidphosphors.

Im Carcinomknoten wurde außerdem das Cholesterin nach Windaus bestimmt. Zu diesem Zweck wurden 4,5245 g der trockenen Substanz im Heißextraktionsapparat im Laufe von 12 Stunden mit Aceton extrahiert, das Aceton abdestilliert, der Rückstand mit 96° Alkohol aufgenommen und mit einer 1%igen Digitoninlösung gefällt.

Cholesterin 0,0634 g auf trockene Substanz berechnet 1,40%
„ frische „ „ 0,25%

Eine weitere Acetonextraktion im Laufe von 6 Stunden gab keinen Digitoninniederschlag.

[1]) Nach einer liebenswürdig mitgeteilten, noch nicht veröffentlichten Arbeit von O. Kondratowitsch, wofür ich hier meinen besten Dank ausspreche.

E. Petry[1]) hat gefunden, daß ein Brustdrüsencarcinom etwa 20% mehr Nucleoproteid als normales Mammagewebe enthielt. J. Bang[2]) stellte aus Lymphdrüsenmetastasen, die von einem Sarkom der Hoden ausgegangen waren, ein Nucleohiston dar. Dieser Befund ist bemerkenswert, da der Hoden in der Norm frei von Nucleohiston ist. Wir fanden den Proteidphosphor im Carcinomknoten um 6,70% im Vergleich zur normalen Leber erhöht.

Nach Untersuchungen von Freund und Kaminer[3]) soll ein zelldestruierender Faktor, der nur in nicht „carcinomatösem" Serum vorkommt, und ein zellschützender Faktor, der nur im Blutserum Carcinomatöser vorkommt, in Form eines Nucleoglobulins vorkommen, und deshalb wäre es von Interesse, festzustellen, ob irgend ein Zusammenhang zwischen diesem Nucleoglobulin und dem erhöhten Gehalt oder dem Auftreten von phosphorhaltigen Eiweißkörpern in Krebstumoren existiert.

[1]) l. c.
[2]) l. c.
[3]) Wiener klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 25.

Über die Einwirkung des Alkohols auf die antigenen Gruppen der roten Blutkörperchen.

Von

Grete Thorsch.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 1. August 1913.)

Die Einwirkung von — insbesondere schädigenden — Agenzien auf die antigenen Zellgruppen ist seit jeher sehr eingehend untersucht worden. Man hat hauptsächlich Bakterien nach der Richtung hin geprüft, weil man stets das praktische Ziel vor Augen hatte, eine Immunisierung zu erreichen, gleichzeitig aber sowohl die Giftigkeit als auch die Vitalität der Bakterien zu zerstören. Dabei hat sich gezeigt, daß die antigenen Gruppen der Bakterien äußerst widerstandsfähig sind. Ja, es ist schwer, einem Mikroorganismus seine antikörperbildende Fähigkeit überhaupt zu nehmen. Theoretisches Interesse erregten die Untersuchungen von Dungern und Coca, welche fanden, daß Osmiumlösung in einer bestimmten Konzentration die Blutkörperchenreceptoren intakt ließ, trotzdem aber den Blutkörperchen ihre antigene Fähigkeit nahm. Dies stand im strikten Gegensatz zu den Anschauungen der Ehrlichschen Seitenkettentheorie. Es ist begreiflich, daß diese Feststellungen bei den Anhängern Ehrlichs Aufmerksamkeit erregten und einer Nachprüfung unterzogen wurden. Die tatsächlichen Befunde der beiden genannten Autoren wurden von Szily bestätigt. Auch er konnte zeigen, daß das Osmium die Bindungskraft der roten Blutkörperchen unbeeinträchtigt ließ, dahingegen diese ungeeignet machte, Hämolysine zu erzeugen. Gleichzeitig aber konnte Szily die wichtige Tatsache feststellen, daß das Erhaltenbleiben der Bindungskraft nicht auf einer Intaktheit der spe-

zifischen Receptoren beruhte, sondern eine ganz andere Ursache hatte. Denn nicht nur osmierte Hammelblutkörperchen verankerten die spezifischen Hammelbluthämolysine, sondern auch osmierte Meerschweinchenblutkörperchen. Es schien dadurch der Beweis erbracht, daß das Osmium an Blutkörperchen Veränderungen hervorrief, die ihnen die Fähigkeit verlieh, in nicht spezifischer Weise Hämolysine zu adsorbieren, gleichzeitig aber die spezifischen Receptoren zu zerstören. Letzteres konnten sie an Versuchen mit sehr verdünnter Osmiumsäure feststellen. Bei dieser Auffassung aber sprachen die Versuche von Coca nicht gegen die Ehrlichsche Theorie, da infolge Zerstörung der Receptoren eine Antikörperbildung ausbleiben mußte.

Wir selbst haben eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Einwirkung des Alkohols auf Blutkörperchen zu studieren. Der Alkohol wurde deshalb gewählt, weil er wegen seiner Löslichkeit für Lipoide und wegen seiner Eiweißfällung besonders geeignet erschien. Wissen wir ja, daß die Lipoide bei den roten Blutkörperchen einerseits eine bedeutende Rolle spielen, andererseits man infolge der neueren Anschauungen den Lipoiden — vielleicht mit Unrecht — Antigennatur zuschreibt. Wenn man also Alkohol längere Zeit auf rote Blutkörperchen einwirken läßt, so sollte man erwarten, daß die Rückstände jeglicher biologischer Fähigkeiten beraubt seien, da ja die Eiweißkörper denaturiert und die lipoiden Stoffe zum großen Teil entfernt sind. Wir wollen nun prüfen, ob dies in der Tat der Fall ist. Zunächst mußte untersucht werden, wie sich die mit Alkohol behandelten Blutkörperchen hinsichtlich ihrer spezifischen Bindungskraft für Hämolysine verhalten.

Versuch 1.

2 ccm Hammelblut werden 2 mal gewaschen, mit 10 ccm 96%igem Alkohol gemischt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen und hierauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. Bodensatz von 2 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelblutes + 1 ccm Immunserum[1]) in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. Bodensatz von 2 ccm natives Hammelblut + 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

[1]) Dabei ist stets Hammelblut-Immunserum gemeint.

Röhrchen III. 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10 als Kontrolle.

Die Röhrchen I, II und III kommen auf $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank. I und II werden dann auf der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Aus den Abgüssen werden folgende Verdünnungen hergestellt:

Nr.	Abguß von I ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5 %iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	Spur
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5 %iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	0
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Flüssigkeit von III ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5 %iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	„

In ein IV. Röhrchen kommt als Kontrolle 0,05 ccm Komplement + 1 ccm Hammelblut; keine Lösung.

Versuch 2.

Röhrchen I. Bodensatz von 2 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. Bodensatz von 2 ccm natives Hammelblut + 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen III. 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10 als Kontrolle.

Die Röhrchen I, II und III kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank. I und II werden dann auf der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Aus den Abgüssen werden folgende Verdünnungen hergestellt:

Nr.	Abguß von I ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5 %iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5 %iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	0
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Flüssigkeit von III ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5 %iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	„

Als Kontrolle 0,05 ccm Komplement + 1 ccm Hammelblut; keine Lösung.

Diesen beiden Versuchen entnimmt man, daß der Alkohol zwar die Bindungsfähigkeit der roten Blutkörperchen vermindert, sie jedoch nicht aufhebt, da dieselben noch viele Amboceptoreneinheiten zu binden imstande sind. Es mußte nun festgestellt werden, ob es sich hier nicht ähnlich wie bei den osmierten Blutkörperchen verhält; d. h. wir mußten auf dieselbe Weise auch andere Blutkörperchen mit Alkohol behandeln und sie auf ihre Bindungsfähigkeit für Hammelbluthämolysine prüfen. Zunächst wurden Pferdeblutkörperchen untersucht.

Versuch 3.

Hammelblut- und Pferdeblutkörperchen werden gewaschen und dann je 2 ccm mit 10 ccm 96 %igem Alkohol und mit 10 ccm Aceton zusammengebracht, diese Röhrchen 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen und dann 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. Satz von 2 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 1 ccm Immunserum einer Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 2 ccm des mit Aceton behandelten Hammelbluts + 1 ccm Immunserum einer Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen III. 2 ccm des mit Alkohol behandelten Pferdebluts + 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen IV. 2 ccm des mit Aceton behandelten Pferdebluts + 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen V. 2 ccm natives Hammelblut + 1 ccm Immunserum.

Röhrchen VI. 2 ccm natives Pferdeblut + 1 ccm Immunserum.

Röhrchen VII. 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Die Röhrchen I bis VI kommen auf $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank und werden dann in der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Aus den Abgüssen werden folgende Verdünnungen hergestellt:

Nr.	Abguß von I ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	stark
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	stark
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	mäßig

Nr.	Abguß von IV ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	mäßig

Nr.	Abguß von V ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	mäßig
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von VI ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	mäßig

Nr.	Flüssigkeit von VII ccm	Meerschweinchen-Serum als Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	„

Versuch 4.

Hammelblut- und Pferdeblutkörperchen werden gewaschen und dann je 2 ccm mit je 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht; diese Röhrchen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. Bodensatz von 2 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelblutes + 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 2 ccm des mit Alkohol behandelten Pferdeblutes + 1 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 2 ccm natives Hammelblut + 1 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 2 ccm natives Pferdeblut + 1 ccm Immunserum.

Röhrchen V. 1 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Alle Röhrchen kommen für ½ Stunde in den Brutschrank, werden zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	0
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	0
2	0,10	0,05	1	0
3	0,05	0,05	1	0
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	0

Nr.	Abguß von V ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,50	0,05	1	komplett
2	0,10	0,05	1	„
3	0,05	0,05	1	„
4	0,01	0,05	1	0

In Versuch 3 scheint die Bindung der Alkoholblutkörperchen und der mit Aceton behandelten eine vollkommen spezifische zu sein, da nur die Hammelblutkörperchen, nicht aber die mit Alkohol behandelten Pferdeblutkörperchen die Hammelbluthämolysine verankern. Auch in Versuch 4 tritt — wenn auch nicht so deutlich wie in Versuch 3 — diese Spezifität hervor, da ja hier die mit Alkohol behandelten Pferdeblutkörperchen deutlich stärker binden als die unbehandelten. Dieser Umstand ist jedoch sehr auffallend, da er gerade das Gegenteil wie bei den Hammelblutkörperchen zeigt; denn während bei letzteren der Alkohol die Bindungskraft gegenüber den unbehandelten Blutkörperchen abschwächt, bedingt er bei Pferdeblutkörperchen eine Erhöhung. Dies mußte den Gedanken nahe

legen, daß hier nicht spezifische Momente eine Rolle spielen. Demnach ergab sich die Notwendigkeit, auch die Blutkörperchen anderer Tierarten in den Bereich dieser Untersuchung zu ziehen. Die beiden nachfolgenden Versuche wurden mit Meerschweinchenblutkörperchen angestellt.

Versuch 5.

Hammelblut- und Meerschweinchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht. Diese Röhrchen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 2 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 2 ccm des mit Alkohol behandelten Meerschweinchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 2 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 2 ccm natives Meerschweinchenblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen V. 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Die Röhrchen kommen für 1/2 Stunde in den Brutschrank, werden dann abzentrifugiert und aus den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	„

Nr.	Abguß von V ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	„

Versuch 6.

Hammelblut- und Meerschweinchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht. Diese Röhrchen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Meerschweinchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm natives Meerschweinchenblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen V. 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Die Röhrchen kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank und werden dann zentrifugiert; aus den Abgüssen werden folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	stark
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	stark

Nr.	Abguß von V ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	stark

Diese Versuche beweisen, daß die oben geäußerte Anschauung zu Recht besteht, indem die mit Alkohol behandelten Meerschweinchenblutkörperchen in genau derselben Weise wie Hammelblutkörperchen die Hämolysine binden; daraus geht hervor, daß der Alkohol unzpezifische Bedingungen für eine Hämolysinadsorption schafft.

Versuch 7.

Hammelblut- und Kaninchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht. Die Röhrchen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 2 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 2 ccm des mit Alkohol behandelten Kaninchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 2 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 2 ccm natives Kaninchenblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen V. 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Die Röhrchen kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank, werden dann zentrifugiert und aus den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	stark
2	0,20	0,05	1	mäßig
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	stark
2	0,20	0,05	1	mäßig
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Flüssigkeit von V ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	0

Auch dieser, mit Kaninchenblutkörperchen angestellte Versuch zeigt dasselbe wie der vorangehende; denn auch diese Blutkörperchen verhalten sich den Hammelbluthämolysinen gegenüber nicht anders wie die mit Alkohol behandelten Hammelblutkörperchen.

Das Affenblut weist — wie der nachfolgende Versuch zeigt — kein anderes Verhalten auf.

Versuch 8.

Hammelblut- und Affenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht; die Röhrchen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf 4mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Affenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm natives Affenblut + 2 ccm Immunserum (1 : 10).

Röhrchen V. 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Die Röhrchen kommen für ½ Stunde in den Brutschrank, werden dann zentrifugiert und aus den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	Hammel-blut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	stark

Nr.	Flüssigkeit von V ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	stark

Versuch 9.

Hammelblut-, Rinderblut-, Schweineblut- und Kaninchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht; die Röhrchen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen und darauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Rinderbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Schweinebluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Kaninchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen V. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.
„ VI. 4 „ „ Rinderblut + 2 „ „
„ VII. 4 „ „ Schweineblut + 2 „ „
„ VIII. 4 „ „ Kaninchenblut + 2 „ „
„ IX. 2 „ Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Die Röhrchen kommen auf ½ Stunde in den Brutschrank, werden zentrifugiert und aus den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	0
2	0,50	0,05	1	0
3	0,25	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	0
2	0,50	0,05	1	0
3	0,25	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	0
2	0,50	0,05	1	0
3	0,25	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	0
2	0,50	0,05	1	0
3	0,25	0,05	1	0

Nr.	Abguß von V ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	0
2	0,50	0,05	1	0
3	0,25	0,05	1	0

Nr.	Abguß von VI ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	komplett
2	0,50	0,05	1	„
3	0,25	0,05	1	stark

Nr.	Abguß von VII ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	komplett
2	0,50	0,05	1	„ ?
3	0,25	0,05	1	„ ?

Nr.	Abguß von VIII ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	komplett
2	0,50	0,05	1	„
3	0,25	0,05	1	stark

Nr.	Abguß von IX ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	0,05	1	komplett
2	0,50	0,05	1	„
3	0,25	0,05	1	stark

Aus allen diesen Versuchen dürfte zur Genüge hervorgehen, daß hier ähnliche Verhältnisse vorliegen wie bei den osmierten Blutkörperchen. Es kann also daraus nicht ge-

schlossen werden, daß die trotz der Behandlung mit Alkohol erhaltene Bindungskraft der Hammelblutkörperchen für Hämolysine auf einer spezifischen Receptorenwirkung beruht. Man ist jedoch auch nicht berechtigt, dem Alkohol eine zerstörende Wirkung auf die haptophore Gruppe der roten Blutkörperchen zuzuschreiben. Denn es können ja bei den Hammelblutkörperchen ganz andere Verhältnisse vorliegen als bei den Blutkörperchen anderer Tierarten. So sehen wir schon, daß die Pferdeblutkörperchen nicht in unser Schema passen; aus dem Grunde haben wir es für notwendig erachtet, Tiere mit den Alkoholblutkörperchen zu immunisieren. Dem stellten sich jedoch nicht geringe technische Schwierigkeiten in den Weg. Denn die mit Alkohol behandelten Blutkörperchen stellten in der Kochsalzemulsion eine derart verbackene Masse dar, daß es ganz unmöglich erschien, dieselbe durch eine Spritzenkanüle zu injizieren. Damit war natürlich von vornherein die intravenöse Injektion ausgeschlossen. Die einzige Möglichkeit, die Blutkörperchen unter die Haut zu bringen, bestand darin, daß wir dieselben in eine Pipette mit vollkommen abgebrochener Spitze aufsaugten und in eine breite, unterminierte Hauttasche rasch einbliesen. Die Haut wurde durch Naht geschlossen. Jedes Kaninchen erhielt 3 ccm Blut. Es ist klar, daß eine derartig kompakte Masse nur schwer der Resorption zugänglich ist, so daß schon von vornherein ein günstiger immunisatorischer Effekt nicht zu erwarten war. In der Tat wies auch die 10 Tage nach der Injektion durchgeführte Blutentnahme keinen hämolytischen Effekt auf. Hingegen war derselbe nach einer zweiten Injektion, man kann sagen in starkem Maße, ausgesprochen, insbesondere wenn man die ebenerwähnten ungünstigen Momente in Betracht zieht. Die Sera der 2 behandelten Kaninchen verhielten sich folgendermaßen:

Nr.	Serum des schwarzen Kaninchens ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Erste Entnahme	Entnahme nach der 2. Injektion
1	0,100	0,05	1	0	komplett
2	0,050	0,05	1	0	„
3	0,010	0,05	1	0	„
4	0,005	0,05	1	0	stark

Nr.	Serum des grauen Kaninchens ccm	Komplement ccm	Hammelblut ccm	Erste Entnahme	Entnahme nach der 2. Injektion
1	0,100	0,05	1	0	komplett
2	0,050	0,05	1	0	„
3	0,010	0,05	1	0	stark
4	0,005	0,05	1	0	„

Obzwar nach den bisherigen Reagensglasversuchen die Alkoholblutkörperchen sich von den osmierten Blutkörperchen nicht unterscheiden, so weisen sie doch eine scharfe Differenz bezüglich des Immunisierungseffektes auf. Wie bereits erwähnt, sind die osmierten Blutkörperchen zur Erzeugung von hämolytischen Immunkörpern völlig ungeeignet, die Alkoholblutkörperchen hingegen bilden dieselben in reichlichem Maße. Dies beweist, daß die antigenen Gruppen durch den Alkohol nicht zerstört werden. Nun entsteht die Frage, ob, entsprechend den Anschauungen Ehrlichs, die antigenen Zellgruppen mit den haptophoren identisch sind. Wie aus den vorausgehenden Experimenten hervorgeht, läßt sich dies auf Grund von Bindungsversuchen nicht entscheiden. Wir wissen ja nicht, ob die Bindungskraft der Alkoholblutkörperchen für den spezifischen Immunkörper eine spezifische Bindung ist, oder, wie bei den artfremden Blutkörperchen, die mit Alkohol behandelt sind, eine unspezifische Adsorption. Für die osmierten Blutkörperchen, die sich ebenso verhalten, wurde ja von Szily das letztere angenommen. Es steht uns, um diese Frage zu entscheiden, noch ein zweiter Weg offen, nämlich die Komplementbindung. Wir wissen bereits aus früheren Versuchen von Weil und Spät, daß Stoffe, die in nicht spezifischer Weise komplementbindende Immunkörper adsorbieren, nach der Adsorption derselben nicht komplementbindend wirken. In diesen Versuchen konnte nämlich gezeigt werden, daß geronnenes Serum, das in starkem Maße befähigt ist, nicht spezifische Eiweißpräcipitine zu adsorbieren, nach Adsorption derselben das Komplement nicht bindet. Es ist also nach diesen Feststellungen notwendig, daß das Antigen in spezifischer Weise den Antikörper verankern muß, um Komplement zu binden. Wenn wir diese Ermittlungen auf die vorliegende Frage übertragen, so müßten, wenn die Alkoholblutkörperchen in spezifischer Weise Immunkörper binden, sie nach der Bindung auch

das Komplement verankern. Wenn jedoch eine nicht spezifische Immunkörperadsorption vorliegt, so dürften sich die Alkoholblutkörperchen, die mit Immunserum behandelt waren, bezüglich der Komplementbindung nicht anders verhalten als die unbehandelten Blutkörperchen. Anbei folgt ein in diesem Sinne ausgeführter Versuch.

Versuch 10.

6 ccm Hammelblutkörperchen werden gewaschen, mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, hierauf 4 mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 3 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 0,25 ccm Immunserum.

Röhrchen II. 3 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts.

Röhrchen III. 3 ccm natives Hammelblut.

Röhrchen I, II und III kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank und werden zentrifugiert. Dann kommt der Abguß von Röhrchen I auf den Satz von Röhrchen II und dieses für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank, wieder zentrifugiert und nun der Abguß davon auf den Satz von Röhrchen III; auch dieses für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank und zentrifugiert. Nun kommt zu den Sätzen Meerschweinchenserum als Komplement.

Röhrchen I. Satz von I + 2 ccm Komplement (immer in der Verdünnung 1 : 10).

Röhrchen II. Satz von II + 2 ccm Komplement.

Röhrchen III. Satz von III + 2 ccm Komplement.

Die Röhrchen kommen nun für 1 Stunde in den Brutschrank, werden dann zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen hergestellt:

Nr.	Abguß von I ccm	3fach sensib. 5%ige Hammelblutkörperchen ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	3 fach sensib. Hammelblutkörperchen ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	mäßig

Nr.	Abguß von III ccm	3 fach sensib. Hammelblutkörperchen ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	mäßig

Nr.	Komplement ccm	3 fach sensib. Hammelblutkörperchen ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	„

Dieser Versuch zeigt, daß die mit Imunserum behandelten Alkoholblutkörperchen in starkem Maße komplementbindend wirken, während die mit bereits behandeltem Immunserum sterilisierten Blutkörperchen das Komplement nahezu intakt lassen. Dieser Versuch spricht bei Berücksichtigung der obigen Ausführungen sowohl für eine spezifische Immunkörper- als auch Komplementbindung.

Versuch 11.

Hammelblutkörperchen und Meerschweinchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht. Diese Röhrchen bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und werden darauf 4 mal auf der Wasserzentrifuge zentrifugiert.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Meerschweinchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm natives Meerschweinchenblut + 2 ccm Immunserum.

Die Röhrchen kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank und werden zentrifugiert, und zu den Sätzen kommen je 3 ccm Komplement in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen I. Satz von I + 3 ccm Komplement (1 : 10).

Röhrchen II. Satz von II + 3 ccm Komplement.

Röhrchen III. Satz von III + 3 ccm Komplement.

Röhrchen IV. Satz von IV + 3 ccm Komplement.

Die Röhrchen I, II, III und IV bleiben nun 1 Stunde im Brutschrank, werden zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	wenig
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	stark
3	0,25	1	0

Nr.	Meerschweinchenserum als Komplement ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	„

Versuch 12.

Hammelblutkörperchen und Meerschweinchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit je 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht. Diese Röhrchen bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und werden darauf 4mal auf der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Meerschweinchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm natives Meerscheinchenblut + 2 ccm Immunserum.

Die Röhrchen kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank, werden zentrifugiert und zu den Sätzen kommen je 3 ccm Meerschweinchenserum als Komplement in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen I. Satz von I + 3 ccm Komplement.

Röhrchen II. Satz von II + 3 ccm Komplement.

Röhrchen III. Satz von III + 3 ccm Komplement.

Röhrchen IV. Satz von IV + 3 ccm Komplement.

Die Röhrchen I, II, III und IV bleiben nun 1 Stunde im Brutschrank, werden dann zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen hergestellt:

Nr.	Abguß von I ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	stark
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	„

Nr.	Abguß von III ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	stark
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	„

Nr.	Meerschweinchenserum als Komplement ccm	3 fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	„

In den vorausgegangenen Versuchen wurden außer Hammelblutkörperchen auch Meerschweinchenblutkörperchen geprüft. Wir sehen, daß die mit Immunserum behandelten Hammelblutkörperchen deutlich stärker Komplement binden als die Meerschweinchenblutkörperchen. Auch dies spricht für eine spezifische Beeinflussung.

Versuch 13.

Hammelblut-, Affenblut- und Kaninchenblutkörperchen werden gewaschen und dann je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht. Dies wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und 4mal in der Wasserzentrifuge gewaschen.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Affenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen III. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Kaninchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts.

Röhrchen V. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen VI. 4 ccm natives Affenblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen VII. 4 ccm natives Kaninchenblut + 2 ccm Immunserum.

Diese Röhrchen kommen auf $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank, werden zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	stark
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	stark
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	5 % iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	stark
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von V ccm	Komplement ccm	5 % iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von VI ccm	Komplement ccm	5 % iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	stark
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von VII ccm	Komplement ccm	5 % iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	„

Nr.	Immunserum ccm	Komplement ccm	5 % iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	„
4	0,02	0,05	1	„

Zu den Sätzen der behandelten Blutkörperchen kommt Meerschweinchenserum als Komplement.

Röhrchen I. Satz von I + 3 ccm Komplement (immer in der Verdünnung 1 : 10).

Röhrchen II. Satz von II + 3 ccm Komplement.
„ III. „ „ III + 3 „ „
„ IV. „ „ IV + 3 „ „
„ V. „ „ V + 3 „ „
„ VI. „ „ VI + 3 „ „
„ VII. „ „ VII + 3 „ „

Diese Röhrchen bleiben 1 Stunde im Brutschrank, werden dann zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	3fach sensib. 5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	stark
2	0,50	1	wenig
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	mäßig

Nr.	Abguß von IV ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	stark

Nr.	Abguß von V ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von VI ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
3	0,50	1	„
3	0,25	1	stark

Nr.	Abguß von VII ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	stark

Nr.	Komplement ccm	3fach sensib. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	„

Hier wurden außer Hammelblutkörperchen auch Affenblut- und Kaninchenblutkörperchen geprüft. Wir merken hier gegenüber den früheren Versuchen eine Differenz insofern, als auch das Affenblut deutlich komplementbindend wirkt. Dies kann auf zweierlei Weise zu erklären sein. Entweder bindet das Affenblut schon an sich Komplement oder es hat das Kaninchenserum normalerweise komplementbindende Stoffe für Affenblut. Für letzteres spricht die Tatsache, daß Kaninchenblutkörperchen, bei denen das zweite Moment keine Rolle spielen kann, auch nicht zur Komplementbindung befähigt sind.

Versuch 14.

Hammelblut-, Rinderblut-, Kaninchenblut- und Meerschweinchenblutkörperchen werden gewaschen und je 5 ccm mit 10 ccm 96%igem Alkohol zusammengebracht, dies dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und auf der Wasserzentrifuge 4mal zentrifugiert.

Röhrchen I. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts + 2 ccm Immunserum in der Verdünnung 1 : 10.

Röhrchen II. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Hammelbluts.

Röhrchen III. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Rinderbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IV. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Kaninchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen V. 4 ccm des mit Alkohol behandelten Meerschweinchenbluts + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen VI. 4 ccm natives Hammelblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen VII. 4 ccm natives Rinderblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen VIII. 4 ccm natives Kaninchenblut + 2 ccm Immunserum.

Röhrchen IX. 4 ccm natives Meerschweinchenserum + 2 ccm Immunserum.

Die Röhrchen kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank, werden zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von III ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	mäßig
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	mäßig
2	0,20	0,05	1	Spur
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von V ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	Spur
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von VI ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	0
2	0,20	0,05	1	0
3	0,04	0,05	1	0
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von VII ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	stark
4	0,02	0,05	1	wenig

Nr.	Abguß von VIII ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	fast komplett
3	0,04	0,05	1	stark
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Abguß von IX ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	Spur
4	0,02	0,05	1	0

Nr.	Immunserum ccm	Komplement ccm	5%iges Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	0,40	0,05	1	komplett
2	0,20	0,05	1	„
3	0,04	0,05	1	stark
4	0,02	0,05	1	Spur

Zu den Sätzen der behandelten Blutkörperchen kommt Meerschweinchenserum als Komplement.

Röhrchen I. Satz von I + 3 ccm Komplement. (Immer in der Verdünnung 1 : 10.)

Röhrchen II. Satz von II + 3 ccm Komplement.
„ III. „ „ III + 3 „ „
„ IV. „ „ IV + 3 „ „
„ V. „ „ V + 3 „ „
„ VI. „ „ VI + 3 „ „
„ VII. „ „ VII + 3 „ „
„ VIII. „ „ VIII + 3 „ „
„ IX. „ „ IX + 3 „ „

Diese Röhrchen kommen 1 Stunde in den Brutschrank, werden zentrifugiert und von den Abgüssen folgende Verdünnungen gemacht:

Nr.	Abguß von I ccm	3fach sensibilis. 5%ig. Hammelbl. ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von II ccm	3fach sensibilis. Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	fast komplett

Nr.	Abguß von III ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	stark
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von IV ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	fast komplett
3	0,25	1	stark

Nr.	Abguß von V ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	stark
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von VI ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von VII ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	0
2	0,50	1	0
3	0,25	1	0

Nr.	Abguß von VIII ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	fast komplett
3	0,25	1	stark

Nr.	Abguß von IX ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	stark
3	0,25	1	0

Nr.	Komplement ccm	Sensibilisiertes Hammelblut ccm	Resultat nach 1 Std. bei 37°
1	1,00	1	komplett
2	0,50	1	„
3	0,25	1	fast komplett

Der vorangehende Versuch lehrt, daß sich Rinderblutkörperchen und Meerschweinchenblutkörperchen bezüglich der Komplementbindung ähnlich verhalten wie Hammelblutkörperchen. Dies deutet darauf hin, daß möglicherweise gegen diese Blutkörperchen normalerweise im Kaninchenserum komplementbindende Stoffe vorhanden sind, was ja nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen ist, zumal das Kaninchenserum gegen diese Blutkörperchen normalerweise auch Hämolysine enthält. Dafür spricht die Tatsache, daß die Kaninchenblutkörperchen sich glatt negativ verhalten.

Bezüglich der Komplementbindungsversuche durch die Blutkörperchenbodensätze ist noch folgendes zu bemerken. Es ist selbstverständlich, daß die mit Immunserum behandelten Bodensätze der nativen Blutkörperchen durch den Komplementzusatz aufgelöst werden, so daß die Abgüsse dunkelrot erscheinen. Daß die Abgüsse kein Komplement enthalten, könnte ja daran liegen, daß durch die Hämolyse ein Komplementverbrauch stattgefunden hat. Nun wissen wir aber durch Versuche von Liefmann und Cohn, ferner durch Bail und Suzuki, daß durch die Hämolyse ein Komplementverbrauch nicht stattfindet, sondern daß der Komplementverlust durch sekundäre Vorgänge (Methämolyse, Bail) insbesondere durch Komplementbindung bedingt ist. Daß der Komplementbindung in der Tat die ausschlaggebende Rolle zukommt, ersehen wir daraus, daß die mit Alkohol behandelten Blutkörperchen nach dem Kontakt mit Immunserum, ohne aufgelöst zu werden, stark komplementbindend wirken.

Unsere Versuche liefern auch einen Beitrag zu der Frage, ob die hämolytischen Amboceptoren mit den komplementbindenden Antikörpern identisch sind. Wir konnten nämlich mit hämolytischen Immunseris, die durch einmalige Injektion von Blutkörperchen hergestellt waren und reichlich Hämolysine aufwiesen, keine Komplementbindung erzielen. Bei diesen Immunseris wirkten weder die mit Alkohol behandelten sensibilisierten Bodensätze noch die nativen, trotzdem bei den letzteren Hämolyse durch den Komplementzusatz eintrat, komplementbindend. Es ist demnach zu Komplementbindungsversuchen mit Blutkörperchen nötig, nur solche Immunsera zu benutzen, die von Tieren stammen, die eine intensivere Vorbehandlung durchgemacht haben und komplementbindende Antikörper besitzen. Es ist hier ähnlich wie bei manchen Bakterienstämmen, bei denen komplementbindende Antikörper ebenfalls nur nach stärkerer Behandlung der Tiere auftreten, während lytische Antikörper viel leichter entstehen.

Diese Versuche haben also ergeben, daß der Alkohol die meisten roten Blutkörperchen derart beeinflußt, daß sie befähigt werden, in unspezifischer Weise hämolytische Amboceptoren zu adsorbieren. Es kann demnach nicht mit Sicherheit behauptet werden, ob die Alkohol-Hammelblutkörperchen in spezifischer

oder unspezifischer Weise die Hammelbluthämolysine binden. Infolge des Erhaltenbleibens ihrer antigenen Fähigkeit sollte man auch ein Intaktsein ihrer haptophoren Gruppen annehmen, dies um so mehr, als sich zeigen ließ, daß die Alkohol-Hammelblutkörperchen in spezifischer Weise mit den komplementbindenden Antikörpern in Reaktion treten. Es sollten sich nun, dieser Feststellung entsprechend, die osmierten Blutkörperchen insofern anders verhalten, als bei ihnen, infolge des Fehlens der antigenen Eigenschaft, auch die Reaktionsfähigkeit für Komplementbindung verloren gegangen sein müßte. Dies sowie analoge Untersuchungen bei Bakterien soll den Gegenstand weiterer Versuche bilden.

Über den stickstoffhaltigen Bestandteil des Kephalins.

Von

Montague H. Renall (Cardiff).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 4. August 1913.)

Während Thudichum[1]) bei der Untersuchung von Kephalin aus Menschengehirn durch Hydrolyse Cholin und eine andere Base, wahrscheinlich Oxäthylamin fand, gab Cousin[2]) an, nur Cholin im Rinderhirn-Kephalin gefunden zu haben; W. Koch[3]) fand im Kephalin aus Schafshirn eine am Stickstoff gebundene Methylgruppe, Fränkel und Neubauer[4]) behaupteten dasselbe für das Kephalin aus Menschenhirn.

Als nun vor kurzer Zeit A. Baumann[5]) in diesem Institut gefunden hatte, daß im Kephalin aus Menschenhirn nur eine primäre Base, das Oxäthylamin, enthalten ist, konnte aus diesem Befund noch nicht geschlossen werden, ob dieser Bestandteil dem Kephalin allgemein zukomme; er stand im Widerspruch mit den Angaben Cousins und Kochs, die sich auf das Kephalin aus Schaf- und Rinderhirn bezogen. Wir setzten deshalb die Untersuchung der stickstoffhaltigen Bestandteile an Kephalinpräparaten fort, welche aus dem Gehirn von Schafen und Rindern dargestellt waren.

Wir bedienten uns bei der Darstellung eines Verfahrens, das wir hier kurz beschreiben wollen, da es ermöglicht, in verhältnismäßig kurzer Zeit sehr reines Kepalin darzustellen. Die

---

[1]) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns der Menschen und der Tiere. Tübingen 1901. S. 145 ff.

[2]) Journ. de Pharm. et de Chim. (6) **25**, 177, 1907.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 136, 1902.

[4]) Diese Zeitschr. **21**, 332 bis 334, 1909.

[5]) Diese Zeitschr. **54**, 30, 1913.

Gehirne der Tiere wurden ganz frisch vom Schlachthof bezogen, von Häuten und Blut oberflächlich gereinigt, auf einer Schlemmmühle zwischen Porzellansteinen fein zermahlen, dann direkt in die dreifache Menge Aceton eingetragen und damit geschüttelt; nach einem Tage wurde der Rückstand abgesaugt und wieder in die dreifache Menge frischen Acetons eingebracht, nach Verlauf eines weiteren Tages wieder abgesaugt und mit der anderthalbfachen Menge kalten Alkokols einige Stunden lang geschüttelt. Dann wurde das abgesaugte Gehirnmaterial direkt in Petroläther eingetragen und zweimal mit der dreifachen Menge (auf das ursprüngliche Gewicht des feuchten Gehirns bezogen) leichtsiedenden Petroläthers in der Kälte unter Schütteln extrahiert. Bei dieser Behandlung kommt man um die langwierige Trocknung des gehärteten Gehirns im Vakuum herum, umgeht auch die beim Trocknen im Luftstrom unvermeidliche längere Berührung mit Luft; außerdem backen dabei die Gehirnbrocken nicht zusammen und werden vom Extraktionsmittel vorzüglich durchdrungen und ausgezogen. Der petrolätherische Extrakt des Schafshirn-Kephalins ist wasserklar und farblos, der aus Rindergehirn goldgelb.

Die petrolätherischen Extrakte wurden im Kohlensäurestrom eingeengt und durch Eintropfen in Alkohol gefällt: das Kephalin fiel als weiße feste Masse aus. Da die Analyse einen Gehalt an Cerebrosiden ergab, wurde das Kephalin in Äther gelöst, vom Rückstand abzentrifugiert, dann wieder mit Alkohol gefällt. Dann wurde das Präparat (30 g) in etwa 500 ccm Wasser gelöst und nach Thudichum[1]) mit verdünnter Salzsäure gefällt; die Salzsäure (normal) wurde in Portionen von 10 ccm eingetragen, bis eine sich gut absetzende, käsige Fällung entstanden war; dazu wurden 80 ccm der Säure verbraucht. Die Fällung wurde abzentrifugiert und nach dem Vorgang von Neubauer[2]) mit Aceton gehärtet.

Nach der Trocknung im Vakuumexsiccator wurde das Präparat mit Äther aufgenommen; nach der vorangegangenen Behandlung lassen sich dann die Cerebroside, die vorher mit dem Kephalin in die ätherische Lösung gingen, durch Äther exakt entfernen. Nach Abzentrifugieren des Rückstandes wurde die

[1]) a. a. O.

[2]) Diese Zeitschr. **21**, 332, 1909.

Lösung stark eingeengt und mit Aceton ausgefällt, dann im Vakuum getrocknet.

Während der ganzen Behandlung wurde die Berührung der Lösungen mit Luft, sowie das Stehen im Licht tunlichst vermieden.

Wir möchten bemerken, daß das mit Salzsäure aus wässeriger Lösung unter den hier beschriebenen Bedingungen gefällte Kephalin keine Salzsäure enthält. Das Präparat löst sich in reinem Wasser sofort auf und wird durch Säure wieder gefällt. Wir lösten eine gewogene Probe im Wasser, fällten sie mit Salpetersäure, brachten durch Kochen die Fällung zum Zusammenschmelzen und titrierten das Chlor in der (mit etwas Talcum geklärten) wässerigen Lösung nach Volhard: es ergab sich kein Chlorgehalt.

Die Angabe von Fränkel und Neubauer[1]), nach der das mit Salzsäure aus wässeriger Lösung gefällte Kephalin in Alkohol löslich sein soll, können wir nicht bestätigen; unser Präparat war in Alkohol unlöslich und ließ sich durch dieses Fällungsmittel aus der ätherischen Lösung fällen.

1. Analyse des Kephalins aus Rinderhirn:

Phosphor: 0,4559 g : 0,0637 g $Mg_2P_2O_7 = 3{,}56\,\%$.

Stickstoff (Mikro-Dumas):

19,005 mg (30°; 748 mm) : 0,303 ccm $N_2 = 1{,}69\,\%$ N

P : N = 1 : 1,04.

2. Analyse des Kephalins aus Schafshirn:

0,1473 g : 0,0226 g $Mg_2P_2O_7 = 4{,}27\,\%$

28,086 mg (26°; 756 mm): 0,491 ccm $N_2 = 1{,}92\,\%$ N

P : N = 1 : 0,995.

Über die Natur der im Kephalin enthaltenen Base gaben uns vergleichende Bestimmungen des Gesamtstickstoffs und des primären Stickstoffs in dem unveränderten Kephalin, sowie in dessen Hydrolyseprodukten Aufschluß.

3. 0,5178 g Rinderhirn-Kephalin wurden unter Zusatz einiger Tropfen Natronlauge in Wasser gelöst und auf 25 ccm verdünnt. 10 ccm der Lösung (0,259 g) gaben bei einer Bestimmung nach van Slyke bei

756 mm und 23°: 6,35 ccm $N_2 = 1{,}37\,\%$ N.

[1]) a. a. O.

4. 3,04 g Rinderhirn-Kephalin wurden in 100 ccm Wasser gelöst und mit 20 ccm konz. Schwefelsäure in 100 ccm Wasser versetzt. Die Hydrolyse vollzog sich bei 56° unter fortwährendem Rühren während 36 Stunden. Nach Abfiltrieren der Fettsäuren wurde die Schwefelsäure mit Baryt und Chlorbarium entfernt, abgedampft, überschüssiges Chlorbarium mit Alkohol gefällt, eingeengt und auf 50 ccm gebracht. Von dieser Lösung verbrauchen 10 ccm nach Kjeldahl

5,9 ccm 0,1 n-Säure,

entsprechend 41,25 mg N in in der gesamten Lösung.

Es geben 10 ccm nach van Slyke

bei 21° und 756 mm: 12,6 ccm $N_2 = 7{,}1$ mg N

entsprechend 35,5 mg N für die Gesamtmenge der Lösung.

In der Lösung der Hydrolyseprodukte des Rinderhirn-Kephalins sind sonach 87% des Gesamtstickstoffs als primärer Aminostickstoff nachweisbar.

30 ccm der hydrolysierten Lösung wurden, wie in der Arbeit von Baumann[1]) beschrieben wurde, auf das Goldsalz der Base verarbeitet. Es wurde eine kleine Menge der charakteristischen Oxäthylamin-Chloraurat-krystalle gewonnen, die durch ihren Schmelzpunkt (186°) und eine Mischprobe mit dem synthetischen Chloraurat identifiziert wurden.

5. 1,7 g Schafshirn-Kephalin wurden in der gleichen Weise wie das Präparat aus Rinderhirn hydrolysiert; die wässerige Lösung der Hydrolyseprodukte wurde auf 25 ccm gebracht.

Bestimmung nach Kjeldahl:

5 ccm der Lösung verbrauchen

2,8 ccm 0,1 n-Säure,

entsprechend 19,6 mg N in der Gesamtmenge.

Bestimmung nach van Slyke:

10 ccm Lösung geben (759 mm und 23°)

13,6 ccm N_2,

entsprechend 19,0 mg N in der Gesamtmenge.

---

[1]) Diese Zeitschr. 54, 30, 1913.

Es wurden also in den Produkten der Hydrolyse von Schafshirn-Kephalin 97,5% des Gesamtstickstoffs als primärer Aminostickstoff gefunden.

6. 0,5778 g Schafshirn-Kephalin wurden wie in Versuch 3 in 25 ccm gelöst und 10 ccm dieser Lösung einer Bestimmung nach van Slyke unterworfen.

0,2311 g (755 mm 25°): 6,7 ccm $N_2 = 1{,}6\%$ N.

7. Bei Versuchen, Methylimid und Kephalin aus Rinderhirn zu bestimmen, erhielten wir eine Ausscheidung von Jodsilber, noch bevor die Jodwasserstoffsäure aus dem Kölbchen destilliert war; dann bei Erhitzung auf sehr hohe Temperatur (360°) eine Ausscheidung von Jodsilber, die niedriger war als dem Verhältnis $N : CH_3 = 1 : 1$ entsprechen konnte. Was diese Bildung von Jodalkylen bedeutet, ob sie etwa durch Zersetzung des Glycerins oder des Oxäthylamins zustande kommt, können wir nicht sagen.

Zusammenfassung.

Das Kephalin aus Schaf- und Rindergehirn enthält — ebenso wie das aus Menschengehirn gewonnene — den Stickstoff in Form einer primären Aminobase; im Rindergehirn-Kephalin wird Aminoäthylalkohol nachgewiesen. Wir halten diese Base für einen charakteristischen Bestandteil des Kephalins.

Über den Abbau des Phenylalanins im tierischen Organismus.

Von

Gustav Embden und Karl Baldes.

(Aus dem Städtischen chemisch-physiologischen Institut, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 4. August 1913.)

Nachdem durch frühere Untersuchungen[1]) gezeigt worden war, daß der Abbau der Aminosäuren im Tierkörper unter Bildung der um ein Kohlenstoff ärmeren Fettsäuren erfolgt, gelang es O. Neubauer[2]), den Chemismus dieser Umwandlung in weitgehender Weise aufzuklären.

Dieser Forscher konnte nämlich dartun, daß die Abspaltung der Aminogruppe vom α-Kohlenstoffatom unter gleichzeitiger Oxydation dieses C-Atoms zur Carbonylgruppe erfolgt nach der Bruttoformel $XCHNH_2COOH + O = XCOCOOH + NH_3$.

Neubauer gelangte zu dieser Erkenntnis durch Beobachtungen an aromatisch substituierten Aminosäuren, und zwar zum Teil an der Phenylaminoessigsäure $C_6H_5CHNH_2COOH$, deren aromatischer Kern auch im normalen Tierkörper nicht verbrennlich ist, zum Teil durch Untersuchungen über das Verhalten des Tyrosins und verschiedener Derivate desselben bei der Alkaptonurie.

Wir wollen hier nur auf die letzteren Untersuchungen eingehen.

Bereits Baumann und Wolkow hatten gezeigt, daß Verabreichung von Tyrosin an Alkaptonuriker eine Steigerung der Homogentisinsäureausscheidung bedingt, und Falta und Lang-

[1]) Embden, Salomon und Schmidt, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 140, 1906. — Baer und L. Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 55, 89, 1906.

[2]) O. Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 211, 1909.

stein[1]) konnten dartun, daß Phenylanalin dieselbe Wirkung ausübt. Neubauer und Falta[2]) erkannten dann, daß alle diejenigen aromatisch-substituierten Säuren, deren Kern im normalen Organismus leicht verbrennbar ist, bei der Alkaptonurie in Homogentisinsäure übergehen.

Sie betrachten die Homogentisinsäure als ein normales intermediäres Stoffwechselprodukt, dessen Abbau eben bei der Alkaptonurie gestört ist. Diese Autoren zeigten unter anderem, daß Phenyl-α-Milchsäure, die den Phenylalanin entsprechende α-Oxysäure und in höherem Grade noch Phenylbrenztraubensäure, die dem Phenylalanin entsprechende Ketosäure, vom Alkaptonuriker in Homogentisinsäure umgewandelt werden. Beide Säuren sind dementsprechend im normalen Organismus total verbrennbar[3]).

Hiervon abweichend ist nun, wie O. Neubauer zeigte, das Verhalten der entsprechenden Tyrosinderivate. Während die Ketosäure (Paraoxyphenylbrenztraubensäure) die Homogentisinsäureausscheidung stark zu steigern vermag, ist die Oxysäure (Paraoxyphenyl-α-Milchsäure) ohne Einwirkung auf deren Umfang.

Aus diesen Versuchen im Verein mit den an anderen aromatischen Substanzen vorgenommenen zieht Neubauer den Schluß, daß die α-Ketosäuren die ersten nach der Desaminierung der α-Aminosäuren auftretenden Substanzen sind. Etwa auftretende α-Oxysäuren sind nur als sekundäre Reduktionsprodukte der Ketosäuren aufzufassen.

Embden, Salomon und Schmidt[4]) konnten dartun, daß diejenigen aromatischen Substanzen, deren Kern im normalen Organismus total verbrennlich ist, und die dementsprechend bei der Alkaptonurie in Homogentisinsäure umgewandelt werden, ebenso wie die letztere Substanz selbst bei der künstlichen Durchblutung der Hundeleber Aceton (richtiger Acetessigsäure) bilden. Dementsprechend tritt vermehrte Acetessigsäurebildung

---

[1]) W. Falta und L. Langstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 513, 1902/03.

[2]) O. Neubauer und W. Falta, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 81, 1904.

[3]) Siehe auch F. Knoop, Der Abbau aromatischer Fettsäuren im Tierkörper. Freiburg 1904.

[4]) Embden, Salomon und Schmidt, l. c. S. 148ff.

bei der Durchströmung mit Tyrosin, Phenylalanin und Phenyl-α-Milchsäure auf.

Neubauer und Groß[1]) und unabhängig davon Schmitz[2]) zeigten, daß ganz entsprechend den eben erwähnten Befunden Neubauers bei der Alkaptonurie die Paraoxyphenyl-α-Milchsäure ohne merklichen Einfluß auf den Umfang der Acetessigsäurebildung in der Leber ist, während die Paraoxyphenylbrenztraubensäure in ganz besonders hohem Maße die Acetessigsäurebildung in der künstlich durchbluteten Leber zu steigern vermag.

I.

Die Einwirkung der Phenylbrenztraubensäure, der dem Phenylalanin entsprechenden Ketosäure, auf die Acetessigsäurebildung in der Leber ist bisher nicht untersucht worden.

Da diese Substanz aber im normalen Organismus total verbrennlich ist[3]) und bei der Alkaptonurie in besonders hohem Maße Homogentisinsäure bildet, erschien es uns von vornherein als höchst wahrscheinlich, daß die Phenylbrenztraubensäure auch den Acetessigsäurebildnern zuzurechnen sei, und es war wesentlich der Wunsch nach einer gewissen systematischen Vollständigkeit, der uns zu Durchblutungsversuchen unter Phenylbrenztraubensäurezusatz veranlaßte.

Die Technik unserer Versuche war ganz die früher geübte. In allen Versuchen, bei denen nicht ausdrücklich anderes vermerkt ist, wurde die Durchströmung mit 1600 ccm defibriniertem Rinderblut vorgenommen. Sobald die Durchblutung in vollem Gange war, erfolgte der Zusatz der Substanz.

Die schmelzpunktreine Phenylbrenztraubensäure wurde in wenig Wasser suspendiert und unter Vermeiden vom stärkeren Erwärmen durch Ammoniakzusatz — in einigen späteren Versuchen durch Natronlauge — in Lösung gebracht. Die Menge Ammoniak wurde so gewählt, daß blaues Lackmuspapier eben nicht mehr gerötet wurde.

Vom Augenblick des Zusatzes der Substanz zum Durchblutungsblute an dauerte der Versuch noch 60 Minuten.

Die Acetonbestimmungen an je 500 ccm des nach Schenck

---

[1]) O. Neubauer und W. Groß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 219, 1910.

[2]) E. Schmitz, diese Zeitschr. 28, 117, 1910.

[3]) F. Knoop, a. a. O. S. 36.

gewonnenen Filtrats geschah ganz in der früher geschilderten Weise. Auch an dem Blut vor der Durchblutung (Blut A) wurden Acetonbestimmungen vorgenommen und, wie früher, der so gewonnene Wert von dem am Blut nach der Durchblutung (Blut B) erhaltenen abgezogen.

Da Phenylbrenztraubensäure mit Wasserdampf flüchtig ist und Jod bindet, wurde das erste bei saurer Reaktion gewonnene Destillat stets bei alkalischer Reaktion redestilliert und erst an diesem zweiten Destillat die Titration nach Messinger-Huppert vorgenommen. Aus der so erhaltenen Differenz wurde die Acetonbildung pro Liter Durchblutungsblut berechnet. Wir nahmen auch hier zum Zwecke unmittelbaren Vergleichs mit unseren früheren Versuchen die Umrechnung auf Aceton und nicht auf Acetessigsäure vor, die ja dem Aceton gegenüber im Durchblutungsblut weit überwiegt.

Die Durchströmungsversuche mit Phenylbrenztraubensäure sind in Tabelle I niedergelegt, aus der auch die Einzelheiten der Versuchsanordnung, soweit sie nicht bereits eben erwähnt wurden, hervorgehen.

Tabelle I.

Nr. des Versuchs	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Dem Durchblutungsblut zugeführte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter Durchblutungsblut mg	Bemerkungen
1	6,5	180	2 g Phenylbrenztraubensäure mit Ammoniak neutralisiert in wenig Wasser	31	
2	7,5	185	Dasselbe	23	
3	9,8	210	Dasselbe	42	
4	11,5	440	Dasselbe	36	Die Subst. wurde dem Durchblutungsblut allmählich tropfenweise hinzugefügt.
5	9,0	190	3 g Phenylbrenztraubensäure mit Ammoniak neutralisiert	22	
6	5,0	145	5 g Phenylbrenztraubensäure mit Ammoniak neutralisiert	36	
7	6,0	120	Dasselbe	32	

Aus der Tabelle ist die Acetonbildung pro Liter des angewandten Durchblutungsbluts ersichtlich. In 6 von 7 Versuchen mit 2 bis 5 g Phenylbrenztraubensäure zeigte sich wider Erwarten, daß Phenylbrenztraubensäure den Umfang der Acetessigsäurebildung in der durchbluteten Leber nicht oder nicht merklich steigerte, während in einem Versuche (Tabelle I, Versuch 3) eine eben deutliche Steigerung der Acetessigsäurebildung gegenüber Leerversuchen erkennbar ist.

In früheren Versuchen hatte sich außer d-l-Phenylalanin auch die d-l-Phenyl-α-Milchsäure als Acetessigsäurebildner erwiesen (Embden, Salomon und Schmidt, l. c.).

Das Verhalten der sich vom Phenylalanin ableitenden Ketosäure und Oxysäure bezüglich der Acetessigsäurebildung in der isolierten Leber ist also dem der entsprechenden Derivate des Tyrosins gerade entgegengesetzt.

Die Unfähigkeit der Phenylbrenztraubensäure, Acetessigsäure zu bilden, erschien uns um so auffälliger, als unter nahezu den gleichen Bedingungen früher vorgenommene Durchblutungsversuche mit phenylbrenztraubensaurem Ammoniak zur Bildung nicht ganz geringer Mengen Phenylalanin[1]) und Phenyl-α-Milchsäure[2]) geführt hatten, also zur Bildung zweier Substanzen, die zweifellos in der durchbluteten Leber unter Auftreten von Acetessigsäure abgebaut werden können. Diese Tatsache mußte den Gedanken nahelegen, daß Phenylbrenztraubensäure in der durchbluteten Leber nicht nur selber keine Acetessigsäure bildet, sondern auch die Acetessigsäurebildung aus anderen Substanzen, in erster Linie aus Phenylalanin, zu hindern vermag.

Das ist nun in der Tat der Fall, wie aus den Versuchen 8 bis 12 der Tabelle II hervorgeht.

Nur in einem dieser 4 Versuche (Versuch 9) ist die Acetessigsäurebildung trotz Zusatz von d-l-Phenylalanin neben Phenylbrenztraubensäure merklich größer als in Leerversuchen während bei Durchblutung unter ausschließlichem Zusatz von Phenylalanin die Angabe von Embden, Salomon und Schmidt, daß diese Substanz ein starker Acetessigsäure-

[1]) G. Embden und E. Schmitz, diese Zeitschr. 29, 423, 1910.

[2]) Noch nicht veröffentlichte Beobachtungen.

bildner ist, durchaus bestätigt wurde (Tabelle II, Versuche 12 bis 15, Acetonbildung pro Liter 84 bis 147 mg).

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Dem Durchblutungsblut zugesetzte Substanzen	Gebildete Menge Aceton pro Liter Durchblutungsblut mg	Bemerkungen
8	7,0	195	2 g Phenylbrenztraubensäure mit Ammoniak neutralisiert, 2 g d-l-Phenylalanin	84	
9	8,0	200	Wie in Versuch 8	46	
10	11,0	277	5 g Phenylbrenztraubensäure mit Natronlauge neutralisiert, 5 g d-l-Phenylalanin in 150 ccm Ringerlösung	26	Die Durchströmung geschah mit Hundeblut, dem $^1/_5$ seines Volumens an Ringerlösung hinzugefügt war. Menge der Durchströmungsflüssigkeit 1600 ccm. In Versuch 10 wurde eine Acetonbestimmung vor der Durchblutung nicht ausgeführt, sondern für das Blut A ein normaler Acetongehalt angenommen.
11	8,0	195	Wie im vorigen Versuch	15	
12	5,5	180	2 g d-l-Phenylalanin	84	
13	5,5	115	1,3 g d-l-Phenylalanin	75	
14	6,8	186	4 g d-l-Phenylalanin in 120 ccm Ringerlösung	87	Die Durchströmungsflüssigkeit war die gleiche wie in den Versuchen 10 und 11.
15	6,4	237	5 g d-l-Phenylalanin in 150 ccm Ringerlösung	147	Die Durchströmungsflüssigkeit war die gleiche wie in den Versuchen 10 und 11.
16	7,5	250	2 g l-Tyrosin. 2 g Phenylbrenztraubensäure mit NH_3 neutralisiert.	40	
17	6,0	200	2 g d-l-Leucin. 2 g Phenylbrenztraubensäure mit NH_3 neutralisiert, in physiologischer Kochsalzlösung	52	
18	5,5	180	Wie im vorigen Versuch	31	
19	7,0	160	Dasselbe	40	
20	9,0	230	2 g d-l-Leucin in 140 ccm Kochsalzlösung von 0,85%	102	

Ebenso wie die Acetessigsäurebildung aus d-l-Phenylalanin wurde die an sich noch stärkere aus l-Tyrosin durch gleichzeitigen Zusatz von Phenylbrenztraubensäure zum Durchblutungsblute nahezu völlig verhindert (Tabelle II, Versuch 16).

Die Versuche 10 und 11 unter gleichzeitigem Zusatz von Phenylbrenztraubensäure und Phenylalanin wurden aus weiter unten zu erörterernden Gründen ebenso wie die Versuche 14 und 15 (Zusatz von d-l-Phenylalanin allein) unter Verwendung

von Hundeblut, das mit $^1/_5$ seines Volumens Ringerlösung verdünnt war, angestellt.

Nicht ganz so eindeutig sind die Ergebnisse dreier Versuche mit Phenylbrenztraubensäure und d-l-Leucin. In zweien dieser Versuche ist die Acetessigsäure nicht (Versuch 18) oder nur unwesentlich größer (Versuch 19) als im Leerversuch, während in dem dritten (Versuch 17) eine immerhin deutliche Steigerung der Acetessigsäurebildung vorhanden ist. Sie ist freilich weitaus geringer als in einem von uns unter sehr ähnlichen Versuchsbedingungen und ausschließlichem Zusatz von d-l-Leucin vorgenommenen Versuch (Tabelle II, Versuch 20, Acetonbildung pro Liter 102 mg).

Für die Deutung der hemmenden Einwirkung der Phenylbrenztraubensäure auf die Acetessigsäurebildung aus Phenylalanin und Tyrosin und auch aus Leucin kamen sehr verschiedenartige Möglichkeiten in Betracht.

Von vornherein schien es uns ausgeschlossen, daß es sich hier um eine Hemmungswirkung durch konkurrierende Phenylbrenztraubensäure-Verbrennung im Sinne einer früher vom Embden und Wirth[1]) veröffentlichten Untersuchung handelte. Denn wenn Phenylbrenztraubensäure leichter als die eben erwähnten Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Leucin in der durchbluteten Leber verbrennen würde, so wäre nach allem, was wir über den Abbau leicht verbrennlicher aromatischer Substanzen in der isolierten Leber wissen, nicht ein Ausbleiben, sondern eine Steigerung der Acetessigsäurebildung als Wirkung des Phenylbrenztraubensäurezusatzes zu erwarten gewesen.

Hingegen erschien es uns notwendig, zwei andere Möglichkeiten einer experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Es war denkbar, daß die Phenylbrenztraubensäure den oxydativen Stoffwechsel in der Leber überhaupt lähmte, also eine eigentliche Giftwirkung auf die Leber ausübte, oder aber daß sie in mehr spezifischer Weise gerade die Acetessigsäurebildung aus Aminosäuren hemmte.

Traf die erste Möglichkeit zu, verursachte also die Phenylbrenztraubensäure eine giftartige allgemeine Oxydationshem-

[1]) G. Embden und J. Wirth, diese Zeitschr. 27, 1, 1910.

mung in der Leber, wie etwa Blausäure oder größere Mengen Amylalkohol, so mußte sich ihre Hemmungswirkung auf alle Acetessigsäurebildner erstrecken, wenigstens auf alle, die die Acetessigsäure auf oxydativem Wege entstehen lassen.

Dies ist nun aber keineswegs der Fall, wie aus einer Reihe weiterer Versuche hervorgeht, die wir unter gleichzeitigem Zusatz von Phenylbrenztraubensäure und Isovaleriansäure resp. n-Capronsäure anstellten (Versuch 21 bis 24 der Tabelle III).

Tabelle III.

Nr. des Versuchs	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Dem Durchblutungsblut zugesetzte Substanzen	Gebildete Menge Aceton pro Liter Durchblutungsblut mg	Bemerkungen
21	5,0	100	2 g Isovaleriansäure, 2 g Phenylbrenztraubensäure mit NH_3 neutralisiert	75	
22	9,3	210	Wie im vorigen Versuch	103	
23	10,0	200	2 g n-Capronsäure, 2 g Phenylbrenztraubensäure mit NH_3 neutralisiert	81	
24	6,0	140	Wie im vorigen Versuch	69	
25	6,0	110	2 g n-Buttersäure, 2 g Phenylbrenztraubensäure mit NH_3 neutralisiert	50	
26	4,7	220	Wie im vorigen Versuch	46	
27	5,7	180	2 g n-Buttersäure mit NH_3 neutralisiert	89	

Die Acetessigsäurebildung aus der Isovaleriansäure und n-Capronsäure erfolgt bei gleichzeitigem Zusatz von Phenylbrenztraubensäure anscheinend ganz ungestört (Acetonbildung pro Liter Durchblutungsblut bei Durchblutung mit Phenylbrenztraubensäure und Isovaleriansäure 75 resp. 103 mg [Versuch 21 und 22], bei Durchblutung mit Phenylbrenztraubensäure und n-Capronsäure 81 und 69 mg, Versuch 23 und 24).

Auffällig erscheint dagegen, daß in zwei übereinstimmenden Versuchen (Versuch 25 und 26 der Tabelle III) die Acetessigsäurebildung aus n-Buttersäure zwar nicht vollständig, aber doch sehr deutlich gehemmt wurde (Acetonbildung pro Liter Durchblutungsblut 50 bzw. 46 mg). Ein mit der gleichen

Buttersäure allein angestellter Versuch gab eine Acetonbildung von 89 mg pro Liter Durchblutungsblut (Tabelle III, Versuch 27).

Welche Deutung man aber auch den Buttersäureversuchen geben mag, aus den Versuchen unter gleichzeitigem Zusatz von Phenylbrenztraubensäure und Isovaleriansäure resp. n-Capronsäure geht jedenfalls hervor, daß die Phenylbrenztraubensäure keine allgemeine Lähmung des oxydativen Stoffwechsels in der Leber verursacht, daß ihre Hemmungswirkung auf die Acetessigsäurebildung aus Aminosäuren als eine mehr spezifische anzusehen ist.

Es liegt nahe, diese Hemmung des Aminosäureabbaues durch eine Ketosäure in Zusammenhang zu bringen mit der Reversibilität des Abbaus der α-Aminosäuren zu α-Ketosäuren, denn wenn einerseits durch die bereits erwähnten Untersuchungen O. Neubauers feststeht, daß die Aminosäuren zu den entsprechenden Ketosäuren abgebaut werden können, so wissen wir andererseits durch die Arbeiten von F. Knoop[1]), Embden und Schmitz[2]) und Kura Kondo[3]), daß umgekehrt α-Ketosäuren im Tierkörper zum Teil in die entsprechenden α-Aminosäuren umgewandelt werden.

Durch die Versuche der drei letztgenannten Autoren ist überdies festgestellt, daß die Aminosäuresynthese aus α-Ketosäure und Ammoniak gerade unter den Bedingungen dieser Arbeit, d. h. während einer kurzdauernden Leberdurchblutung eintritt.

Unter anderen Aminosäuresynthesen wurde, wie bereits oben erwähnt, die hier zunächst in Frage kommende Phenylalaninbildung bei Durchströmung mit dem Ammoniaksalz der Phenylbrenztraubensäure beobachtet.

Nehmen wir nun an, daß es sich bei dem Übergang von Aminosäure in Ketosäure und umgekehrt um eine wirkliche Gleichgewichtsreaktion (oder doch um eine Aufeinanderfolge solcher Reaktionen) handelt, so ist es ohne weiteres verständlich, daß eine abnorme Anhäufung von Ketosäure die Reaktion in der Richtung der Aminosäuresynthese aus dieser Ketosäure

[1]) F. Knoop, l. c.
[2]) Embden und Schmitz, l. c.
[3]) Kura Kondo, diese Zeitschr. 38, 407, 1912.

verschiebt, also den Abbau der entsprechenden Aminosäure zu Ketosäure hemmt.

Wenn nun ferner die Phenylbrenztraubensäure, wie es tatsächlich der Fall ist, nicht nur den Abbau des Phenylalanins, sondern auch den anderer Aminosäuren hemmt, so dürfte das vielleicht darauf zurückzuführen sein, daß die Gleichgewichtsreaktion Aminosäure $\rightleftarrows$ Ketosäure unter vorübergehender Bindung an bestimmte Molekularkomplexe der Leberzelle erfolgt.

Durch den Zusatz der Phenylbrenztraubensäure werden vielleicht diese Molekularkomplexe besetzt und dadurch für andere Substanzen von ähnlicher Struktur gleichsam verstopft.

Wir sind uns bewußt, daß es sich hier nur um den Versuch einer Erklärung handelt, der aber vielleicht Veranlassung zu weiteren Experimenten werden könnte.

Mit der Annahme, daß die Phenylbrenztraubensäure eine Verstopfung von bestimmten intracellulären Molekulargruppen für andere α-Ketosäuren herbeiführt, stimmt auch das Ergebnis zweier weiterer Versuche überein, die wir unter gleichzeitigem Zusatz von Phenylbrenztraubensäure und p-Oxyphenylbrenztraubensäure ausführten (Tabelle IV, Versuche 28 u. 29). Die Acetonbildung betrug hier 49 und 40 mg pro Liter, war also nur wenig über die Norm gesteigert, während an und für sich p-Oxyphenylbrenztraubensäure neben β-Oxybuttersäure als der stärkste bisher überhaupt beobachtete Acetessigsäurebildner anzusehen ist (Acetonbildung pro Liter Durchblutungsblut 143 und 157 mg in den obenerwähnten Versuchen von Schmitz).

Tabelle IV.

Nr. des Versuchs	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Dem Durchblutungsblut zugesetzte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter Durchblutungsblut mg	Bemerkungen
28	5,2	190	2 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure, 2 g Phenylbrenztraubensäure mit NH_3 neutralisiert	49	
29	4,5	190	Wie im vorigen Versuch	40	

II.

Die Tatsache, daß Phenylbrenztraubensäure im Gegensatz zum Phenylalanin in der durchbluteten Leber keine Acetessigsäure zu bilden vermag, schien uns auch unabhängig von den oben besprochenen Hemmungsversuchen einer weiteren Verfolgung wert zu sein.

Wenn Phenylalanin in der Leber unter Acetessigsäurebildung abgebaut wird, Phenylbrenztraubensäure aber nicht, so schien es uns — bei Ausschluß einer Giftwirkung der Phenylbrenztraubensäure auf die Leberzellen — höchst unwahrscheinlich, daß Phenylbrenztraubensäure als eins der nächsten normalen intermediären Abbauprodukte des Phenylalanins anzusehen ist.

Somit erhebt sich die Frage, welche Substanzen als die nächsten Abbauprodukte des Phenylalanins in Betracht kommen.

Die Beobachtungen von Falta und Langstein (l. c.) bei der Alkaptonurie lassen keinen Zweifel darüber, daß Phenylalanin ebenso wie Tyrosin in Homogentisinsäure umgewandelt werden kann, und die Anschauung, daß Homogentisinsäure ein normales intermediäres Stoffwechselprodukt ist, hat an Wahrscheinlichkeit immer mehr gewonnen.

Die Veränderung, die das Phenylalanin bei seiner Umwandlung in Homogentisinsäure schließlich erleidet, besteht in einer Kürzung der Seitenkette um ein C-Atom und im Ersatz zweier Wasserstoffatome des aromatischen Kerns durch Hydroxylgruppen.

In welcher zeitlichen Folge treten die Veränderungen an der Seitenkette und die oxydativen Vorgänge ein?

Das Verhalten der Phenylbrenztraubensäure bei der Leberdurchblutung spricht entschieden dagegen, daß die oxydative Desaminierung der Seitenkette unter Bildung der ebengenannten Substanz dem ersten oxydativen Angriff auf den aromatischen Kern vorausgeht.

Geht die erste Umwandlung der Seitenkette des Phenylalanins dem Oxydationsvorgang am Kern nicht voraus, so kann sie der ersten oxydativen Kernveränderung entweder folgen oder gleichzeitig mit ihr einsetzen.

Im ersten Falle, d. h. wenn die Kernoxydation noch vor der ersten Veränderung der Seitenkette einsetzen würde, müßte als erstes Abbauprodukt des Phenylalanins eine im Kern

oxydierte Aminosäure, und zwar aller Wahrscheinlichkeit nach nichts anderes als das gewöhnliche Tyrosin, das p-Oxyphenylalanin, auftreten, da nach den Versuchen von L. Blum[1]) das Ortotyrosin und das Metatyrosin für den Organismus nicht im Kern angreifbar sind.

Im Falle gleichzeitiger Kernoxydation und oxydativer Desaminierung der Seitenkette würde eine im Kern oxydierte Ketosäure, und zwar aller Voraussicht nach p-Oxyphenylbrenztraubensäure auftreten, da nach Neubauer (l. c.) von den drei existierenden Oxyphenylbrenztraubensäuren nur diese vom Alkaptonuriker in Homogentisinsäure übergeführt werden kann.

Sowohl vom Tyrosin wie auch von der ihm entsprechenden Ketosäure, eben der Paraoxyphenylbrenztraubensäure, wissen wir, daß sie in der isolierten Leber unter reichlicher Acetessigsäurebildung abgebaut werden.

Die Paraoxyphenylbrenztraubensäure geht überdies bei der Leberdurchblutung sehr leicht in Tyrosin über, so daß das Auftreten dieser Aminosäure als Umwandlungsprodukt des Phenylalanins auch bei primärer Bildung der Paraoxyphenylbrenztraubensäure möglich wäre.

Auf Grund der eben angestellten Erwägungen untersuchten wir, ob sich tatsächlich Tyrosin als intermediäres Produkt des Phenylalaninabbaues nachweisen läßt.

Auch hier bedienten wir uns der Durchblutungsmethode.

Als Durchströmungsflüssigkeit benutzten wir zu dieser Versuchsreihe nicht Rinderblut, sondern Hundeblut, das mit $^1/_5$ seines Volumens Ringer-Lösung (ohne Zucker und Bicarbonat) verdünnt war.

Wir hofften, bei Verwendung artgleichen Blutes das Auftreten von Tyrosin durch Eiweißspaltung in der Leber am besten verhindern zu können.

Die Durchströmung ist bei Verwendung von Hundeblut stets eine sehr vollkommene. Die Strömungsgeschwindigkeit betrug in unseren Versuchen pro Gramm der durchbluteten Leber und Minute mindestens 2 ccm, meist aber weit mehr. Der Blutdruck, einige Zentimeter vor dem Eintritt des Blutes in die Leber gemessen, war meist geringer als 40 mm Hg, nie

[1]) L. Blum, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. 1907, S. 240; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 143, 1908.

aber für längere Zeit wesentlich höher als 50 mm Hg. Wir erwähnen diese Einzelheiten, weil sie möglicherweise für eine Nachprüfung unserer Versuche von Bedeutung sind.

Die Menge des zur Durchblutung benutzten verdünnten Hundeblutes betrug in allen späteren Versuchen 1600 ccm. In den ersten Versuchen war sie zum Teil wenig geringer oder größer. Nicht mit eingerechnet sind hier die ersten 200 ccm Blut, die der Leber entströmten; diese wurden, wie in unseren sämtlichen neueren Versuchen, gesondert aufgefangen und beseitigt.

Die Durchströmungsdauer betrug in sämtlichen Versuchen 60 bis 65 Minuten.

Wir nahmen zunächst eine Reihe von Leerversuchen vor, trotzdem wir uns bereits bei früherer Gelegenheit des öfteren überzeugt hatten, daß bei kurzdauernder Durchströmung der Leber unter Zusatz verschiedenartiger, nicht aromatischer Substanzen eine isolierbare Menge Tyrosin nicht auftritt[1]).

Am Schlusse des Versuchs wurde das Durchblutungsblut sofort nach Schenck gefällt[2]).

Das durch Absaugen der Flüssigkeit auf großen Nutschen gewonnene Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, durch einen Luftstrom vom Schwefelwasserstoff befreit und eine möglichst große Menge des Filtrats (meist 6500 ccm, entsprechend etwas mehr als 1080 ccm Blut) mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und bei einer 45° nicht übersteigenden Temperatur des Heizwassers möglichst rasch im Vakuum auf etwa 500 ccm eingeengt.

Das eingeengte Filtrat wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und im Lindschen Apparat während 6 bis 8 Stunden zur Entfernung der Hauptmenge ätherlöslicher Säuren extrahiert. Die Flüssigkeit wurde nun gut gekühlt, mit Natronlauge neutralisiert und mit weiteren 5 bis 7 ccm starker (33%iger) Natronlauge alkalisch gemacht. Von dem ausgeschiedenen Phosphatniederschlag wurde die Flüssigkeit durch Filtrieren oder Zentrifugieren getrennt und zur Entfernung des Ammoniaks, das bei

[1]) Siehe Embden und Schmitz, l. c.

[2]) In einer Reihe von Versuchen haben wir an den Blutfiltraten Acetonbestimmungen vorgenommen, deren Ergebnis zum Teil in den oben besprochenen Tabellen niedergelegt ist.

den nachfolgenden Operationen störend wirken konnte, während etwa 2 Stunden bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur des Heizwassers destilliert.

Die Flüssigkeit wurde jetzt wieder mit Salzsäure oder Schwefelsäure neutralisiert und mit so viel starker Natronlauge versetzt, daß rotes Lackmuspapier intensiv blau gefärbt wurde (etwa 2 ccm Natronlauge von 33%).

Nunmehr wurde unter Zusatz von 5 g β-Naphthalinsulfochlorid in ätherischer Lösung auf der Schüttelmaschine bei einer Temperatur von nicht unter 20° geschüttelt. Von Zeit zu Zeit wurde geprüft, ob noch alkalische Reaktion bestand und nötigenfalls etwas Natronlauge zugefügt. Die Schüttelung wurde in den späteren Versuchen nach etwa 8 bis 10 Stunden, in den früheren Versuchen nach etwa 20 Stunden unterbrochen. Handelte es sich um einen Leerversuch, so zeigte die Flüssigkeit nach dieser Zeit meist nur einen sehr geringfügigen Niederschlag.

Die wässerige Schicht wurde im Scheidetrichter so gut wie möglich von der ätherischen getrennt und der in ihr suspendierte Niederschlag durch Absaugen gewonnen.

Um auch den in der Grenzschicht zwischen Äther und Wasser suspendierten, nicht ohne weiteres abtrennbaren Niederschlagsanteil zu gewinnen, wurde die naphthalinsulfochloridhaltige ätherische Schicht so gut wie möglich abgegossen, die zurückbleibende Flüssigkeit mehrmals mit neuem Äther ausgeschüttelt und nun ebenfalls an der Saugpumpe filtriert. Die vereinigten Niederschlagsanteile wurden im Scheidetrichter mit Wasser übergossen, reichlich Salzsäure hinzugefügt und sofort mit Äther gründlich geschüttelt. Die ätherische Schicht, die die Naphthalinsulfone enthalten mußte, wurde abgetrennt und die Ausschüttelung der wässerigen Suspension noch zweimal mit neuen Äthermengen wiederholt. Die vereinigten sauren Ätherextrakte wurden filtriert, mehrmals im Scheidetrichter mit geringen Wassermengen gewaschen und alsdann der Äther unter Zusatz von etwa 10 bis 20 ccm Wasser abdestilliert.

In dem wässerigen Destillationsrückstand sind nun etwa vorhandene Naphthalinsulfoaminosäuren suspendiert.

Die Flüssigkeit wird nun unter Schütteln mit verdünnter Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt.

Sind erhebliche Mengen Di-β-Naphthalinsulfotyrosin vor-

handen, so wird beim Neutralisieren die Flüssigkeit überhaupt nicht klar, sondern die in saurer Lösung ölige Trübung verwandelt sich sofort in eine krystallinische, die aus dem noch etwas verunreinigten, in kaltem Wasser bekanntlich äußerst schwer löslichen Natriumsalz des Di-β-Naphthalinsulfotyrosins besteht. Die Verunreinigung dieses Niederschlags kann zum Teil aus β-Naphthalinsulfamid bestehen, das bei sorgfältiger vorheriger Entfernung des Ammoniaks allerdings nur in geringer Menge auftritt, falls man nicht gar zu lange mit β-Naphthalinsulfochlorid schüttelt. Das Amid kann leicht durch öfter wiederholtes Schütteln der alkalischen Flüssigkeit mit Äther entfernt werden.

Über Reinigung und Identifizierung der Tyrosinverbindung siehe weiter unten.

Ganz ähnlich wie der beim Schütteln mit β-Naphthalinsulfochlorid entstandene Niederschlag wurde auch das Filtrat von diesem Niederschlag behandelt, d. h. die in Form von löslichen Salzen vorhandenen Naphthalinsulfone wurden durch Zusatz von Salzsäure in die freien Säuren übergeführt, mit Äther aufgenommen und nun genau so weiterbehandelt, wie es eben für die sauren Ätherextrakte aus dem Niederschlag geschildert wurde.

Es gelang übrigens in keinem Falle, aus dieser Fraktion die Tyrosinverbindung zu gewinnen.

Die durch Ausäthern bei saurer Reaktion von Naphthalinsulfonen befreite Flüssigkeit wurde wieder alkalisch gemacht und nochmals längere Zeit mit Naphthalinsulfochlorid geschüttelt.

Wir gehen nunmehr zur Schilderung unserer Versuchsergebnisse über.

In zwei Versuchen, deren technische Einzelheiten aus Tabelle V, Versuche 30 und 31, ersichtlich sind, geschah die Durchströmung ohne jeden Zusatz zum Blute.

In Versuch 30 wurde bei der Durchführung des oben geschilderten Verfahrens schließlich überhaupt keine in Betracht kommende Menge eines schwer löslichen Natriumsalzes erhalten, in Versuch 31 war die Menge schwer löslichen Natriumsalzes immerhin merklich, sie betrug 8 mg; der Schmelzpunkt der nicht umkrystallisierten Substanz war unscharf, lag aber wesentlich über 200°. Ob es sich hier wirklich um das Natriumsalz des

Dinaphthalinsulfotyrosins handelte, vermögen wir nicht zu entscheiden, wir wollen es aber annehmen.

Tabelle V.

Nummer des Versuchs	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Dem Durchblutungsblut zugesetzte Substanz	Bemerkungen
30	8,0	225	Ohne Zusatz	
31	6,0	140	Ohne Zusatz	
32	6,8	181	5 g d-l-Leucin in 150 ccm Ringer-Lösung	
33	8,2	185	5 g d-l-Aminonormalcapronsäure in Ringer-Lösung	
34	11,0	277	5 g Phenylbrenztraubensäure mit Natronlauge neutralisiert. 5 g d-l-Phenylalanin in 150 ccm Ringer-Lösung	Dieser Versuch wurde bereits oben als Versuch 10 der Tabelle II angeführt
35	8,0	195	Wie im vorigen Versuch	Dieser Versuch wurde bereits oben als Versuch 11 der Tabelle II angeführt
36	6,4	237	5 g d-l-Phenylalanin in 150 ccm Ringer-Lösung	Dieser Versuch wurde bereits oben als Versuch 15 der Tabelle II angeführt
37	6,8	186	4 g d-l-Phenylalanin in 120 ccm Ringer-Lösung	Dieser Versuch wurde bereits oben als Versuch 14 der Tabelle II angeführt

Zwei weitere Versuche (Tabelle V, Versuche 32 und 33) nahmen wir unter Zusatz zweier aliphatischer Aminosäuren vor, den einen mit d-l-Leucin, den anderen mit d-l-Aminonormalcapronsäure[1]).

In Versuch 32 erhielten wir bei der ersten Schüttelung mit Naphthalinsulfochlorid einen beträchtlichen Niederschlag, der im wesentlichen aus dem Natriumsalz des β-Naphthalinsulfoleucins bestand, das in rein wässeriger Lösung zwar leicht löslich ist, dagegen bei dem hohen Salzgehalt des stark eingeengten Schenckfiltrats ausfiel.

[1]) Aminonormalcapronsäure dürfen wir nach einer neuerdings erschienenen Mitteilung von Abderhalden und Weil (Zeitschr. f. physiol. Chem. 84, 39, 1913) mit großer Wahrscheinlichkeit für eine in tierischen Eiweißkörpern vorkommende Aminosäure halten.

Die weitere Verarbeitung des Niederschlags in der oben geschilderten Weise führte schließlich zu einer klaren wässerigen Lösung der Natriumsalze der Naphthalinsulfone. Erst nach einigem Stehen fiel ein Niederschlag aus, der nach einmaligem Umkrystallisieren aus wenig heißem Wasser etwas mehr als 11 mg wog. Möglicherweise enthielt er noch etwas β-Naphthalinsulfamid, da wir eine Amidtrennung nicht vorgenommen hatten.

Der Versuch 33 mit d-l-Aminonormalcapronsäure führte zu keiner in Betracht kommenden Menge eines in Wasser schwer löslichen naphthalinsulfoaminosauren Natriumsalzes.

Nach einer einstündigen Durchströmung der Leber ohne Zusatz oder unter Zusatz aliphatischer Aminosäuren konnte also aus dem Durchblutungsblut entweder gar kein Di-β-Naphthalinsulfotyrosin oder nur eine ganz geringfügige Menge dieser Substanz gewonnen werden.

Nunmehr nahmen wir 4 Versuche mit d-l-Phenylalanin vor.

In den Versuchen 34 und 35 fügten wir der Durchströmungsflüssigkeit außer 5 g Phenylalanin auch 5 g mit Natronlauge neutralisierter Phenylbrenztraubensäure hinzu. Wir glaubten nämlich auf Grund unserer im ersten Teile dieser Arbeit geschilderten Versuche, daß etwa auftretendes Tyrosin bei Anwesenheit von Phenylbrenztraubensäure vor dem Abbau besser bewahrt werden würde als ohne deren Gegenwart.

An dem entquecksilberten, nicht eingeengten Schenckfiltrat fiel die Reaktion nach Millon entschieden stärker aus als in den bisherigen Versuchen.

Namentlich aber gab der saure Ätherextrakt des eingeengten Schenckfiltrats diese Reaktion ganz intensiv, während sie in den früheren Versuchen nur schwach auftrat.

Bei der Schüttelung mit β-Naphthalinsulfochlorid bildete sich in wenigen Stunden ein starker Niederschlag aus. Zum größeren Teil bestand er aus dem Natriumsalz des β-Naphthalinsulfophenylalanins, das ebenso wie die entsprechende Leucinverbindung in stark salzhaltigem Wasser nur schwer löslich ist.

Das Gemenge der β-Naphthalinsulfone wurde, wie oben geschildert, in Äther aufgenommen und der Äther unter Wasser-

zusatz abdestilliert. Es löste sich nur teilweise beim vorsichtigen Zusatz von Natronlauge bis zur eben alkalischen Reaktion.

Die ungelöste krystallinische Substanz bestand mikroskopisch aus kleinen, zu Rosetten angeordneten Blättchen. Sie wurde abgesaugt und mehrmals aus heißem Wasser umkrystallisiert.

Die Substanz aus den ersten beiden Schüttelungen wurde vereinigt; bei etwa 100° getrocknet wog sie 0,292 g. Sie schmolz bei 245° (unkorr.), also etwas niedriger als das reine Natriumsalz des Dinaphthalinsulfotyrosins.

Die Substanz wurde nunmehr im Scheidetrichter in Wasser suspendiert, mit Salzsäure in die freie Naphthalinsulfaminosäure übergeführt und mit Äther geschüttelt, der sie spielend aufnahm.

Der Äther wurde abgetrennt, die wässerige Schicht nochmals mit Äther geschüttelt, die vereinigten Ätherextrakte wiederholt mit wenig Wasser gewaschen, abdestilliert und der Destillationsrückstand in 20 ccm absolutem Alkohol aufgenommen.

Die alkoholische Lösung wurde unter Rühren in das 5fache Volumen kalten Wassers eingegossen. Die anfangs als milchige Trübung abgeschiedene Substanz krystallisierte sehr bald beim Stehen im Eisschrank. Nach etwa 24 Stunden wurde sie abgesaugt und mehrmals mit Alkohol von 20% gewaschen. Exsiccatortrocken wog sie annähernd 0,16 g. Sie schmolz nicht ganz scharf zwischen 126 und 128°, nachdem sie schon bei 110° zu sintern begonnen hatte.

Die Eigenschaften des Natriumsalzes und der Schmelzpunkt der Verbindung machten es schon höchst wahrscheinlich, daß es sich hier um Dinaphthalinsulfotyrosin handelte.

Mit der exsiccatortrockenen Substanz wurde nun eine Schwefelbestimmung vorgenommen.

0,1544 g Substanz gaben 0,1251 g $BaSO_4$.

Berechnet für $(C_{10}H_7SO_2)_2C_9H_9O_3N$ . . 11,41% S,
gefunden . . . . . 11,14% S.

Es handelte sich also in der Tat um Dinaphthalinsulfotyrosin.

Dieser Befund wurde durch den folgenden Versuch (Tabelle V, Versuch 35), der in der gleichen Weise angestellt wurde, durchaus bestätigt.

Es wurden schließlich 0,262 g reines, bei 127 bis 128° schmelzendes Dinaphthalinsulfotyrosin gewonnen.

0,16 g der Substanz wurden in 15 ccm absolutem Alkohol gelöst und im 2-dcm-Rohr polarimetrisch untersucht.

Beobachtete Drehung: $+0{,}58^{0}$.

Genau so stark drehte eine gleich konzentrierte Lösung von reinem Dinaphthalinsulfo-l-tyrosin.

Es war also bei der Durchblutung der Leber mit Phenylalanin und Phenylbrenztraubensäure ausschließlich die natürliche l-Form des Tyrosins entstanden.

Nunmehr gingen wir zu Versuchen unter ausschließlichem Zusatz von d-l-Phenylalanin über (Tabelle V, Versuch 36 u. 37).

Auch in diesen Versuchen gelang es ohne weiteres, beträchtliche Mengen der Tyrosinverbindung zu gewinnen.

In Versuch 36, der unter Zusatz von 5 g d-l-Phenylalanin vorgenommen wurde, betrug die Menge reinen Dinaphthalinsulfotyrosins 0,310 g (die Substanz schmolz ein wenig zu niedrig, nach einmaligem Umkrystallisieren aber wieder zwischen 126 und 128°).

0,16 g der Substanz, in 15 ccm absolutem Alkohol gelöst, drehten im 2-dcm-Rohr $0{,}57^{0}$ nach rechts.

Also auch hier war ausschließlich das natürliche l-Tyrosin entstanden.

Der letzte Versuch (Tabelle V, Versuch 37), der unter Zusatz von 4 g d-l-Phenylalanin ausgeführt wurde, lieferte 0,390 g reines Natriumsalz des Dinaphthalinsulfotyrosins.

Wir dürfen es somit als erwiesen ansehen, daß nach einer 1stündigen Durchblutung der Hundeleber untez Zusatz von d-l-Phenylalanin sich Tyrosin in nicht unbeträchtlicher Menge aus dem Durchblutungsblut gewinnen läßt, während in Durchblutungsversuchen ohne Zusatz oder unter Zusatz von aliphatischen Aminosäuren entweder keine oder nur eine ganz geringfügige Tyrosinbildung auftritt.

Wir halten uns daher für berechtigt, das bei der Durchströmung unter Phenylalaninzusatz auftretende Tyrosin als ein Umwandlungsprodukt eben des Phenylalanins anzusehen, und

wir möchten auf Grund unserer Feststellung, daß einerseits der Abbau des Phenylalanins allem Anschein nach nicht über die ihm entsprechende α-Ketosäure, die Phenylbrenztraubensäure, führt, daß andererseits bei der Durchblutung mit Phenylalanin Tyrosin auftritt, durchaus glauben, daß der normale Abbau des Phenylalanins über Tyrosin oder doch über die dem Tyrosin entsprechende Ketosäure, die Paraoxyphenylbrenztraubensäure, führt, die sich ihrerseits leicht in Tyrosin umwandelt[1]).

Das bei der Durchströmung mit d-l-Phenylalanin auftretende Tyrosin besteht ausschließlich aus der natürlichen l-Form. Das ist bei den engen Beziehungen, die offenbar zwischen der oxydativen Angreifbarkeit der Seitenkette und des Kerns des Phenylalanins bestehen, möglicherweise so zu erklären, daß eben nur die natürliche Komponente des Phenylalanins bei Leberdurchblutung im Kern oxydiert wird[2]).

Es wäre aber auch denkbar, daß als erstes Abbauprodukt des Phenylalanins durch gleichzeitig erfolgende Oxydation im Kern und oxydative Desaminierung der Seitenkette p-Oxyphenylbrenztraubensäure entsteht, die, wie wir in einer früher veröffentlichten Arbeit gezeigt haben, bei der künstlichen Durchströmung der Leber ausschließlich zu natürlichem l-Tyrosin aminiert wird[3]).

Wie dem aber auch sein mag, jedenfalls ist, wie wir glauben, durch unsere Versuche der Nachweis erbracht, daß der Organismus Phenylalanin in Tyrosin umzuwandeln vermag.

Noch ein Punkt bedarf einer kurzen Erörterung.

Wir nehmen an, daß Phenylbrenztraubensäure nicht als Abbauprodukt des Phenylalanins in Betracht kommen kann, oder doch, daß jedenfalls diese Substanz nicht auf dem Hauptwege des Phenylalaninabbaues auftritt, weil Phenylbrenztrauben-

---

[1]) Daß der Abbau des Phenylalanins im Organismus möglicherweise über Tyrosin führt, ist schon öfters vermutet worden. In besonders klarer Weise wurde dieser Gedanke von O. Neubauer (l. c. S. 247, Fußnote) ausgesprochen.

[2]) Das nach dem Versuch aus dem Durchblutungsblut isolierte Naphthalinsulfophenylalanin drehte in alkoholischer Lösung nach links, fraglos wohl im Sinne der unnatürlichen Komponente.

[3]) Embden und Schmitz, l. c.

säure in der durchbluteten Leber keine Steigerung der Acetessigsäurebildung hervorruft.

Bei ihrer Verfütterung an den gesunden Organismus wird sie aber restlos verbrannt, und sie geht, an Alkaptonuriker verabreicht, besonders leicht in Homogentisinsäure über.

Phenylbrenztraubensäure ist die einzige bisher beobachtete aromatische Substanz, bei der Verbrennlichkeit des Kerns im normalen Organismus, Übergang in Homogentisinsäure bei der Alkaptonurie und Acetessigsäurebildung in der künstlich durchbluteteten Leber nicht miteinander parallel gehen.

Wir möchten glauben, daß Phenylbrenztraubensäure im Gesamtorganismus in ihrer Hauptmenge ebensowenig wie in der durchbluteten Leber direkt verbrannt resp. in Homogentisinsäure übergeführt wird, sondern daß diese Umwandlung geschieht unter intermediärer Bildung des leicht verbrennlichen Phenylalanins auf dem Wege der Aminierung.

Bei der Verabreichung der Phenylbrenztraubensäure kommt es nicht wie bei der künstlichen Durchströmung zu einer starken Anhäufung der Phenylbrenztraubensäure in der Leber und infolgedessen auch nicht zu einer Abbauhemmung des aus der Phenylbrenztraubensäure gebildeten Phenylalanins.

Der normale Abbau des Phenylalanins führt auch im Gesamtorganismus aller Wahrscheinlichkeit nach zunächst zu Tyrosin oder der leicht in Tyrosin übergehenden p-Oxyphenylbrenztraubensäure.

Die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind folgende:

1. Phenylbrenztraubensäure bildet im Gegensatz zum Phenylalanin und zur Phenyl-α-Milchsäure sowie auch zu der dem Tyrosin entsprechenden α-Ketosäure in der künstlich durchströmten Leber keine Acetessigsäure.

2. Phenylbrenztraubensäure hemmt die Acetessigsäurebildung aus den Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Leucin, sowie auch aus der p-Oxyphenylbrenztraubensäure.

Die Acetessigsäurebildung aus Isovaleriansäure und Normalcapronsäure wird durch Phenylbrenztraubensäure nicht beeinflußt.

Dagegen scheint die Acetessigsäurebildung aus Normal-

buttersäure durch Phenylbrenztraubensäure herabgesetzt zu werden.

3. Bei der Durchströmung der Leber unter Phenylalaninzusatz treten beträchtliche Mengen Tyrosin auf, was in Leerversuchen oder bei Zusatz aliphatischer Aminosäuren nicht der Fall ist.

Das bei der Durchströmung mit d-l-Phenylalanin gebildete Tyrosin besteht ausschließlich aus der natürlichen l-Form.

4. Aus dem Zusammenhalt dieser Tatsachen folgern wir, daß der Abbau des Phenylalanins auf dem Hauptwege nicht über Phenylbrenztraubensäure geht, sondern mit einer Oxydation im Kern beginnt, die entweder direkt zu Tyrosin oder unter gleichzeitiger oxydativer Desaminierung der Seitenkette zunächst zu p-Oxyphenylbrenztraubensäure führt, die, wie aus früheren Versuchen bekannt ist, leicht unter Aminierung in natürliches l-Tyrosin übergeht.

Über Milchsäurebildung im Blute.

V. Mitteilung.

Von

W. Griesbach und S. Oppenheimer.

(Aus dem Städtischen chemisch-physiologischen Institut, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 4. August 1913.)

In einer Reihe von Untersuchungen Embdens und seiner Mitarbeiter[1]) wurde gezeigt, daß bei der künstlichen Durchströmung der glykogenfreien oder sehr glykogenarmen Leber mit Blut von normalem Zuckergehalt der Milchsäuregehalt des Blutes während der Durchströmung nicht wächst, im Gegenteil meistens geringer wird. Bei der Durchströmung einer stark glykogenhaltigen Leber findet ganz im Gegensatze dazu eine starke Milchsäurebildung statt, so daß der Milchsäuregehalt des Blutes oft auf ein Vielfaches seines Ausgangswertes steigt.

Ebenso wie in der Leber abgelagertes Glykogen werden dem Blute zugesetzte Glucose und, in noch stärkerem Umfange, Lävulose in Milchsäure, und zwar ausschließlich in die natürliche d-Milchsäure umgewandelt. Das gleiche gilt auch für Alanin und Glycerin[2]).

Aus den eben erwähnten Befunden geht mit voller Sicherheit hervor, daß der tierische Organismus Traubenzucker, Lävu-

---

[1]) G. Embden, Centralbl. f. Physiol. 18, 832, 1905 (Kongreßber. Brüssel 1904). — C. von Noorden und G. Embden, Centralbl. f. Stoffwechselkrankheiten, Neue Folge 1, 1, 1906. — G. Embden und F. Kraus, Kongr. f. inn. Med., Wiesbaden 1909, S. 351. — Dieselben, diese Zeitschr. 45, 1, 1912.

[2]) S. Oppenheimer, diese Zeitschr. 45, 30, 1912.

lose, Glycerin und Alanin unter Bildung von natürlicher d-Milchsäure abbaut.

In einer ebenfalls aus dem hiesigen Institut veröffentlichten Arbeit von H. Fries[1]) konnte dann gezeigt werden, daß bei kurzem Stehen von aseptisch gewonnenem menschlichen und von Hundeblut bei Körpertemperatur eine deutliche Vermehrung des Milchsäuregehaltes eintritt[2]). Der Verfasser konnte aus äußeren Gründen Untersuchungen über die Natur dieser milchsäurebildenden Substanz nicht anstellen, er verweist aber in seiner Arbeit ausdrücklich auf später ausführlich veröffentlichte Versuche von Fräulein Kraske[3]), „die es sehr wahrscheinlich

[1]) H. Fries, Über das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Blute. Diese Zeitschr. **35**, 368, 1911.

[2]) Nachdem bereits längere Zeit ein wesentlicher Teil der eben genannten Untersuchungen an der durchbluteten Leber über die Milchsäurebildung aus Glykogen, aus Traubenzucker und aus Alanin veröffentlicht war, und nachdem diese Versuche, denen anfänglich noch wesentliche methodische Fehler angehaftet hatten, mit einwandfreier Methodik unter Gewinnung der gleichen Resultate wiederholt, und diese Wiederholung in ihren Ergebnissen ebenfalls bekannt gemacht worden war (die ausführliche Schilderung der Methodik dieser Versuche geschah zuerst in Abderhaldens Handb. d. biochem Arbeitsmethoden **5**, 2, S. 1252, 1912) und nachdem auch die Tatsache der Milchsäurebildung bei kurzdauerndem Stehen von Blut zur Mitteilung gelangt war, haben dann Levene und Meyer*) gezeigt, daß Leukocyten Traubenzucker unter Milchsäurebildung abbauen.

Ich erblicke in den Arbeiten von Levene und Meyer sowie von Slosse**) eine wertvolle Bestätigung und Ergänzung der bereits vor einer Reihe von Jahren von meinen Mitarbeitern und mir strenge erwiesenen Tatsache, daß Traubenzucker im Organismus unter Milchsäurebildung abgebaut wird. Ich kann daher Levene und Meyer nicht beistimmen, wenn sie in einer neuerlich veröffentlichten Untersuchung***) die Anschauung aussprechen, daß die von ihnen erhaltenen Versuchsergebnisse von Embden und seinen Mitarbeitern bestätigt (corroborated) worden wären, vielmehr scheint mir das umgekehrte Verhältnis zuzutreffen. Embden.

[3]) B. Kraske, Über Milchsäurebildung im Blute. Diese Zeitschr. **45**, 81, 1912.

*) P. A. Levene and G. M. Meyer, The action of leucocytes on glucose. Journ. of Biol. Chem. **11**, 362, 1912.

) Slosse, Arch. internat. de Physiol. **11, 149, 1911.

***) Levene und Meyer, Journ. of Biol. Chem. **14**, 149, 1913.

machen, daß die bei kurzdauerndem Stehen des Blutes vermehrt auftretende Milchsäure als ein Produkt der Blutglykolyse aufzufassen ist", was dann auch durch weitere Untersuchungen von Kura Kondo[1]) und namentlich von Karl von Noorden jun.[2]) bestätigt wurde.

Im Gegensatze zu den erwähnten Hexosen (d-Glucose und d-Lävulose) bildete in den Durchblutungsversuchen, die von dem einen von uns[3]) veröffentlicht wurden, die Pentose l-Arabinose sowie der Inosit keine Milchsäure.

In der vorliegenden Untersuchung haben wir nun die Versuche, welche K. von Noorden[4]) mit gewaschenen Blutkörperchen unter Traubenzuckerzusatz, Embden, Baldes und Schmitz[5]) unter Zusatz von Traubenzucker, d-l-Glycerinaldehyd und Dioxyaceton angestellt hatten, auf einige andere Zuckerarten, sowie auch auf einige Substanzen, die nicht den Kohlenhydraten zuzurechnen sind, übertragen.

Als die dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche bereits zum größeren Teile ausgeführt waren, erschien eine Veröffentlichung von Levene und Meyer[6]), die sich mit der Einwirkung von Leukocyten auf die zum Teil gleichen Substanzen, die auch wir untersuchten, beschäftigt. Wir werden auf diese Arbeit weiter unten noch zurückzukommen haben.

Wir benutzten in unseren Versuchen die reinsten, bei Kahlbaum erhältlichen Substanzen. Bezüglich unserer Technik können wir fast ganz auf die Angaben K. von Noordens (l. c.) und Embdens[7]) verweisen. Wir wandten ausschließlich Hundeblut an, das durch Entbluten der Tiere aus den Carotiden in Äthernarkose gewonnen war. Die Waschung der Blutkörperchen geschah in der von von Noorden geschilderten Weise, nur daß

---

[1]) K. Kondo, diese Zeitschr. 45, 88, 1912.

[2]) K. von Noorden, ebenda S. 94.

[3]) S. Oppenheimer, l. c.

[4]) l. c.

[5]) Embden, Baldes und Schmitz, diese Zeitschr. 45, 108, 1912.

[6]) Levene and Meyer, On the action of leukocytes on some hexoses and pentoses, III. Journ. of Biol. Chem. 14, 149, 1913.

[7]) G. Embden, Abderhaldens Handbuch d. biochem. Arbeitsmethod. 5, 2, S. 1252.

wir, statt Kochsalzlösung von 0,85%, Ringersche Lösung ohne Traubenzucker und ohne Natriumbicarbonat anwandten.

Bei diesen Untersuchungen kam es uns nicht nur darauf an, ob eine bestimmte Substanz durch gewaschene Blutkörperchen in Milchsäure umgewandelt würde, sondern es lag uns vor allem auch daran, einen Einblick in den Grad der Angreifbarkeit der einzelnen Substanzen durch Blutkörperchen zu gewinnen. Wir haben daher ganz ähnlich, wie das in den Versuchen von Embden, Baldes und Schmitz (l. c.) geschah, die gleichen Blutkörperchen gleichzeitig auf verschiedene Zuckerarten einwirken lassen. Wir bestimmten zunächst den Milchsäuregehalt der Blutkörperchen unmittelbar nach dem Waschen und dann nach 90 Minuten langem Stehen im Wasserbade von 40° ohne Zusatz, sowie unter Zusatz der zu untersuchenden Substanzen. Die Fällung nach Schenck geschah, wo nicht ausdrücklich anderes vermerkt ist, unter siebenfacher Verdünnung des Blutkörpervolumens. Bezüglich der weiteren Verarbeitung der Filtrate kann ganz auf die Angaben von Noordens verwiesen werden.

Unsere Versuchsergebnisse an verschiedenen Kohlenhydraten sind in Tabelle I zusammengestellt. Die analytischen Belege zu diesen Ergebnissen finden sich in Tabelle III.

Tabelle I.

Oppenheimer und Griesbach.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Nr. des Versuchs	Milchsäure aus 100 ccm Blutkörperchen in mg								Beim Stehen ohne Zusatz neugebildete Milchsäure in mg pro 100 ccm Blutkörperchen	Mehrbildung v. Milchsäure in mg durch 100 ccm Blutkörperchen gegenüber dem Leerversuch bei Zusatz von			
	sofort	nach 90 Minuten langem Stehen bei 40° unter Zusatz von											
	Ohne Zusatz	Ohne Zusatz	0,4 g l-Arabinose	0,4 g Dextrose	0,4 g Lävulose	0,4 g Mannose	0,4 g Galaktose	0,4 g Glucoheptose		0,4 g Dextrose	0,4 g Lävulose	0,4 g Mannose	0,4 g Galaktose
1	12,6	32,1	27,7	43,5	41,6	—	—	31,8	19,5	11,4	9,5	—	—
2	—	18,0	20,8	39,4	35,0	36,2	37,8	17,0	—	21,4	17,0	18,2	19,8
3	11,3	24,3	—	45,4	31,5	27,1	53,6	24,3	13,0	21,1	7,2	2,8	29,2
4	11,3	30,2	32,4	39,7	—	38,4	38,7	—	18,9	9,5	—	8,2	8,5
5	8,8	20,8	22,4	37,5	—	33,1	37,2	—	12,0	16,7	—	12,3	16,4
6	10,7	27,8	—	58,0	54,8	—	—	—	17,1	30,2	27,0	—	—
7	12,4	26,1	—	35,5	37,1	—	—	—	13,7	9,4	11,0	—	—

Aus Kolonne 2 der Tabelle I ist die Menge der in 100 ccm sofort verarbeiteter Blutkörperchen enthaltenen Milchsäure ersichtlich. Sie schwankt nur zwischen annähernd 9 mg in Versuch 5 und 12,6 mg in Versuch 1.

Nach 90 Minuten langem Stehen ohne Zusatz ist der Milchsäuregehalt wesentlich größer: 18 mg in Versuch 2, in dem eine Bestimmung unmittelbar nach dem Waschen nicht ausgeführt wurde, bis 32 mg in Versuch 1.

Vergleichen wir mit diesen Werten die in Kolonne 4 verzeichneten, die unter Zusatz von l-Arabinose zu den Blutkörperchen erhalten wurden, so sehen wir nirgends eine außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung gelegene Beeinflussung der Milchsäurebildung durch diese Pentose (siehe auch Tabelle III, Kolonne 5 und 6). Rechnerisch wurde in dem Arabinoseversuch 1 merklich weniger, in den drei übrigen etwas mehr Milchsäure als in den entsprechenden Leerversuchen gebildet.

Die Blutkörperchenversuche mit Arabinose bestätigen also das früher von S. Oppenheimer gewonnene Ergebnis, daß Arabinose bei der Leberdurchblutung eine Steigerung der Milchsäurebildung nicht herbeiführt, sowie auch die von Levene und Meyer (l. c.) an der Hand von Leukocytenversuchen neuerdings erhaltenen Resultate.

Die Kolonnen 5 bis 8 geben über die Milchsäurebildung unter dem Einfluß von d-Glucose, d-Lävulose, d-Mannose und d-Galaktose Aufschluß.

Die Milchsäurebildung aus Lävulose in der durchbluteten Leber wurde bereits früher von dem einen von uns dargetan (l. c.); in jüngster Zeit konnten dann Levene und Meyer (l. c.) zeigen, daß Lävulose, sowie auch Mannose und Galaktose durch Leukocyten zu Milchsäure abgebaut werden.

Wie man sieht, ist eine Milchsäurebildung aus den genannten Hexosen in sämtlichen Versuchen nachweisbar.

Was den Umfang der Milchsäurebildung aus den einzelnen Sechskohlenstoffzuckern betrifft, so geben darüber am besten die Kolonnen 11 bis 14 Aufschluß, in denen berechnet ist, wieviel Milligramm Milchsäure pro 100 ccm Blutkörperchen mehr als im Leerversuch, d. h. also eben aus den genannten Zuckern gebildet wurde.

Die Milchsäurebildung aus zugesetztem Traubenzucker schwankt zwischen 9 und 30 mg pro 100 ccm, die aus Lävulose ist rechnerisch in vier von fünf Versuchen kleiner als die aus Traubenzucker (Versuche 1, 2, 3, 6) in einem Versuch (Versuch 7) etwas größer, jedoch nur in Versuch 3 liegt der Unterschied außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung.

Immerhin scheint Lävulose durch gewaschene Hundeblutkörperchen ein wenig schwächer als Dextrose in Milchsäure umgewandelt zu werden, während sie in der durchbluteten Leber weitaus stärker als Dextrose Milchsäure bildete.

Die Milchsäurebildung aus Mannose (Kol. 7 und 13 der Tabelle I) erscheint in allen Fällen geringer als die aus Dextrose, aber auch hier liegt die Titrationsdifferenz wieder nur in Versuch 3 (Tabelle III) sicher außerhalb der Versuchsfehler.

Galaktose (Kolonne 8 und 14) erweist sich in drei Versuchen (Versuch 2, 4 und 5) als annähernd ebenso starker Milchsäurebildner wie Dextrose, in einem Falle (Versuch 3) ist sie der Dextrose entschieden überlegen, und zwar gerade in jenem Versuch, in dem die Milchsäurebildung aus Lävulose und Mannose besonders schwach ist.

α-Glucoheptose (Kolonne 9) blieb in drei übereinstimmenden Versuchen ohne jede Einwirkung auf die Milchsäurebildung.

Die Ergebnisse unserer Versuche an Nichtkohlenhydraten, die zum größeren Teil an denselben Blutkörperchen wie die Versuche der Tabelle I vorgenommen wurden, gehen aus Tabelle II hervor.

Inosit, der in Durchblutungsversuchen die Milchsäurebildung in der Leber nicht zu steigern vermochte, war auch in drei von fünf Blutkörperchenversuchen (Versuch 8, 11 und 15, Kolonne 5 und 10) ohne Einfluß auf die Milchsäurebildung, in einem Versuch (12) ist seine Einwirkung kaum zweifelhaft, und in einem weiteren (Versuch 10) überaus deutlich. Hier steht der Inosit nicht hinter der Dextrose zurück. Zur Erklärung des in den zwei letztbesprochenen Versuchen verschiedenen Verhaltens des Inosits bei der Durchblutung der Leber und gegenüber gewaschenen Blutkörperchen ist daran zu erinnern, daß die Milchsäurezerstörung bei der Leberdurch-

blutung weitaus stärker als im Blutkörperchenversuch ist, so daß eine schwache Milchsäurebildung im Durchblutungsblut unter Umständen nicht in Erscheinung tritt, worauf S. Oppenheimer gerade gelegentlich seiner früheren Inositversuche bereits hingewiesen hat[1]).

Tabelle II.

Oppenheimer und Griesbach.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nr. des Versuchs	Milchsäure aus 100 ccm Blutkörperchen in mg						Beim Stehen ohne Zusatz neugebildete Milchsäure in mg pro 100 ccm Blutkörperchen	Mehrbildung von Milchsäure in mg durch 100 ccm Blutkörperchen gegenüber dem Leerversuch bei Zusatz von			Bemerkungen
	sofort	nach 90 Minuten langem Stehen bei 40° unter Zusatz von									
	ohne Zusatz	ohne Zusatz	0,4 g Dextrose	0,4 g Inosit	0,4 g Alanin	0,4 g Glycerin		0,4 g Dextose	0,4 g Inosit	0,4 g Glycerin	
8	—	17,2	—	19,2 17,3	—	—	—	—	2,0 0,1	—	
9	12,6	32,1	43,5	—	31,8	32,8	19,5	11,4	—	0,7	Zugleich Vers. 1 der Tabelle I.
10	11,3	24,3	45,4	46,9 43,2	—	42,4	13,0	21,1	22,6 18,9	18,1	Zugleich Vers. 3 der Tabelle I.
11	10,7	27,8	58,0	29,6	—	—	17,1	30,2	1,8	—	Zugleich Vers. 6 der Tabelle I.
12	12,4	26,1	35,5	29,0 32,2	—	28,1	13,7	9,4	2,9 6,1	2,0	Zugleich Vers. 7 der Tabelle I.
13	11,3	30,2	39,7	—	31,8	—	18,9	9,5	—	—	Zugleich Vers. 4 der Tabelle I.
14	8,8	20,8	37,5	—	24,3	—	12,0	16,7	—	—	Zugleich Vers. 5 der Tabelle I.
15	12,9	30,6	—	31,8	—	30,6	17,7	—	1,3	0,0	

d-l-Alanin, das in der durchbluteten Leber ein sehr starker Milchsäurebildner ist, erwies sich in drei Versuchen (Kolonne 6 der Tabelle II) als ein für die Milchsäurebildung durch Blutkörperchen indifferenter Zusatz.

Das gleiche gilt für die Mehrzahl der Versuche mit Glycerin, das ebenfalls in der Leber sehr stark zu Milchsäure abgebaut wird (Tabelle II, Versuch 9, 12, 15, Kolonne 7 u. 11), in einem Versuch (Versuch 10) ist aber die Steigerung der Milchsäurebildung durch Glycerin eine sehr erhebliche.

[1]) S. Oppenheimer, l. c. S. 43.

Es handelt sich hier um den gleichen Versuch, in dem auch mehrere andere Substanzen sich abweichend von der Mehrzahl der mit ihnen angestellten Versuche verhielten[1]). Lävulose und Mannose wirkten hier ganz auffallend schwach, Galaktose dagegen weitaus stärker als gewöhnlich auf die Milchsäurebildung ein, und auch Inosit und Glycerin, die in den übrigen Versuchen kaum oder gar nicht als Milchsäurebildner in Betracht kamen, waren hier von ganz unzweifelhafter Einwirkung.

Allem Anschein nach handelte es sich um Blutkörperchen von abnormen biologischen Eigenschaften, und es wäre von Interesse, den Ursachen dieses abweichenden Verhaltens nachzugehen.

Das optische Verhalten der aus den einzelnen Kohlenhydraten entstehenden Milchsäure haben wir in dieser Versuchsreihe nicht untersucht. Für Dextrose, Lävulose und Glycerin konnte aber bereits in früher veröffentlichten Durchblutungsversuchen[2]), für Dextrose auch in Versuchen mit gewaschenen Blutkörperchen[3]) und mit Leukocyten[4]) dargetan werden, daß sie ausschließlich in die natürliche d-Milchsäure übergehen. In einer bereits mehrfach erwähnten Arbeit haben dann Levene und Meyer festgestellt (l. c.), daß Lävulose — in Übereinstimmung mit dem Ergebnis unserer früheren Durchblutungsversuche — und auch Mannose durch Leukocyten ebenfalls nur in die d-Form der Milchsäure zerlegt werden.

Die genannten Autoren erblicken darin einen Beweis gegen die von Embden, Baldes und Schmitz (l. c.) auf Grund ihrer Versuche aufgestellten Theorie, daß der Abbau des Traubenzuckers unter intermediärer Bildung zweier Moleküle optisch aktiven Glycerinaldehyds erfolge, und daß bei der Umwandlung des optisch aktiven Glycerinaldehyds in d-Milchsäure die asymmetrische Natur dieser Substanz erhalten bleibe.

Indem die genannten Autoren die von Embden, Baldes und Schmitz für Glucose geäußerten Vorstellungen auf Lävu-

---

[1]) Versuch 3 der Tabelle I und Versuch 10 der Tabelle II wurden mit den gleichen Blutkörperchen angestellt.

[2]) Embden und Kraus, l. c. — S. Oppenheimer, l. c.

[3]) von Noorden, l. c.

[4]) Levene und Meyer, l. c., 1912.

lose übertragen, nehmen sie an, daß diese Substanz in 1 Mol. natürlichen Glycerinaldehyd und 1 Mol. Dioxyaceton zerfallen müsse. Von dem Dioxyaceton müßte man den Übergang in d-l-Milchsäure erwarten.

Wir wissen nicht, ob tatsächlich der Abbau der Lävulose unter Zerfall in natürlichen Glycerinaldehyd und Dioxyaceton erfolgt, halten es aber für sehr möglich.

Daß natürlicher Glycerinaldehyd natürliche Milchsäure bildet, ist ohne weiteres verständlich.

Aber auch Dioxyaceton, das von Hundeblutkörperchen, wie aus der eben erwähnten Untersuchung von Embden, Baldes und Schmitz hervorgeht, nur äußerst schwach in Milchsäure umgelagert wird, so daß die Feststellung ihrer optischen Beschaffenheit erhebliche Schwierigkeiten macht[1]), wird, wie ebenfalls bereits von den zuletzt genannten Autoren gezeigt wurde, in der künstlich durchströmten Leber ausschließlich in natürliche d-Milchsäure umgelagert, eine Angabe, die augenscheinlich Levene und Meyer entgangen ist.

Ebenso lagern auch Schweineblutkörperchen, die Dioxyaceton weitaus stärker als Hundeblutkörperchen angreifen[2]), diese Substanz ausschließlich in natürliche Milchsäure um[3]).

Die Entstehung natürlicher Milchsäure aus d-Lävulose auf dem Wege über 1 Mol. natürlichen Glycerinaldehyd und 1 Mol. Dioxyaceton (das seinerseits vielleicht wiederum zunächst in 1 Mol. natürlichen Glycerinaldehyd umgelagert wird) steht also mit den bisherigen Beobachtungen und den von Embden und seinen Mitarbeitern geäußerten Vorstellungen in bestem Einklange.

Levene und Meyer haben nun aber auch für die d-Mannose den Abbau zu d-Milchsäure durch Leukocyten dargetan.

Würde wirklich d-Mannose bei ihrem Abbau direkt in 2 Mol. Glycerinaldehyd gespalten, so müßte man auf Grund der

---

[1]) In einem von Embden, Baldes und Schmitz veröffentlichten Versuche schien durch Hundeblutkörperchen aus Dioxyaceton d-l-Milchsäure gebildet zu sein. Doch war die Menge des so gewonnenen Zinksalzes so gering, daß die Autoren diesem Versuch ausdrücklich keine Beweiskraft zuerkennen.

[2]) A. Loeb, diese Zeitschr. 50, 451, 1913.

[3]) W. Griesbach, ebenda S. 465, Anmerkung.

Vorstellungen Embdens in der Tat annehmen, daß 1 Mol. natürlicher und 1 Mol. unnatürlicher Glycerinaldehyd und somit d-l-Milchsäure oder gar eine Milchsäure von überwiegend unnatürlicher Beschaffenheit gebildet würde.

Es ist aber durchaus möglich, daß der Spaltung der d-Mannose eine Umlagerung in einen anderen Zucker, z. B. in d-Lävulose oder d-Glucose voraufgeht. Wissen wir doch durch die Untersuchungen von Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein[1]), wie außerordentlich leicht unter der Einwirkung schwacher Alkalien die drei genannten Zucker ineinander umgelagert werden, und ist doch durch Versuche von Neuberg und Mayer[2]) in einwandfreier Weise dargetan, daß Mannose auch im tierischen Organismus in Glucose umgelagert werden kann. In den in Frage kommenden Versuchen gelangte an Kaninchen verabreichte l-Mannose zum Teil als l-Glucose zur Ausscheidung.

Wir glauben also, daß die bisherigen Beobachtungen von Levene und Meyer keineswegs mit den von Embden und seinen Mitarbeitern über den Abbau des Traubenzuckers geäußerten Anschauungen in Widerspruch stehen.

Überblickt man die bisher an verschiedenen Gewebselementen und Organen über den Verbrauch verschiedener Zuckerarten resp. über die Milchsäurebildung aus denselben angestellten Untersuchungen, so ergeben sich zum Teil sehr augenfällige Unterschiede.

Von allen Sechskohlenstoffzuckern ist jedenfalls die d-Glucose am allgemeinsten durch tierische Gewebe angreifbar. Hinter ihr scheint, soweit das bisher untersucht wurde, d-Mannose kaum zurückzustehen.

d-Lävulose wird in der künstlich durchströmten Leber weitaus leichter als Traubenzucker zu d-Milchsäure abgebaut[3]), ihr Abbau durch Blutkörperchen vom Hunde ist von ähnlicher Größenordnung wie jener des Traubenzuckers. Durch den Kaninchendarm sowie das Herz dieser Tierart wird Lävulose überhaupt nicht angegriffen, wie aus den umfassenden Unter-

[1]) Rec. d. trav. chim. d. Pays Bas. **14**, 156, 203, 1895.

[2]) C. Neuberg und P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 530, 1903.

[3]) S. Oppenheimer, l. c.

suchungen von Rona und Neukirch[1]) hervorgeht, die den Parallelismus zwischen der Angreifbarkeit der einzelnen Zuckerarten durch den Kaninchendarm und ihrer Einwirkung auf die Darmtätigkeit dartun konnten.

Tabelle III.

Protokollauszug Oppenheimer und Griesbach.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Nr. des Versuchs	Verwendete Menge Blutkörperchen in ccm	Verdünnung bei der Schenckfällung. Verwendete Filtratmenge in ccm	Bei der Aldehydüberführung gebundene Menge $^n/_{10}$-Jodlösung in ccm										
			sofort	nach 90 Minuten langem Stehen bei 90° unter Zusatz von									
			ohne Zusatz	ohne Zusatz	0,4 g Arabinose	0,4 g Dextrose	0,4 g Lävulose	0,4 g Mannose	0,4 g Galaktose	0,4 g Glucoheptose	0,4 g Inosit	0,4 g Alanin	0,4 g Glycerin
1 u. 9	100	7:1 550	2,0	5,1	4,4	6,9	6,6	—	—	5,05	—	5,05	5,20
2	100	7:1 500	—	2,9	3,3	6,25	5,55	5,75	6,0	2,7	—	—	—
3 u. 10	100	7:1 500	1,8	3,85	—	7,2	5,0	4,3	8,5	3,85	7,45 6,85	—	6,75
6 u. 11	100	7:1 500	1,7	4,4	—	9,2	8,7	—	—	—	4,7	—	—
7 u. 19	150	7:1 700	2,75	5,8	—	7,9	8,25	—	—	—	6,45 7,15	—	6,25
4 u. 13	100	7:1 500	1,8	4,8	5,15	6,3	—	6,1	6,15	—	—	5,05	—
5 u. 14	100	7:1 500	1,4	3,3	3,55	5,95	—	5,25	5,9	—	—	3,85	—
15	100	7:1 500	2,05	4,85	—	9,0	—	—	—	—	5,05	—	4,85
8	100	7:1 500	—	3,0	—	—	—	—	—	—	3,35 3,05	—	—

Maclean und Smedley[2]) erhoben bezüglich der Lävulose am Kaninchenherzen unabhängig von Rona und Neu-

[1]) P. Rona u. P. Neukirch, Experim. Beiträge z. Physiol. d. Darmes. I. Mittlg.: Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 155, 1912. II. Mittlg.: ebenda **146**, 371, 1912. III. Mittlg.: ebenda **148**, 273, 1912. P. Neukirch und P. Rona, Beiträge z. Physiol. d. isolierten Säugetierherzens, ebenda **148**, 285, 1912.

[2]) H. Maclean and I. Smedley, The utilisation of different sugars by the normal heart. Journ. of Physiol. **45**, 462, 1913.

kirch den gleichen Befund, während nach ihnen Lävulose durch das Hundeherz unter Umständen ebenso gut wie d-Glucose verwertet wird.

Galaktose wird durch Leukocyten unter Milchsäurebildung sehr gut angegriffen (Levene und Meyer, l. c.), durch Hundeblutkörperchen, wie oben gezeigt wurde, annähernd ebenso gut wie Traubenzucker in Milchsäure umgewandelt. Dieselbe Zuckerart wird dagegen vom Kaninchendarm weit schwächer als Dextrose verbraucht, während das Kaninchenherz Galaktose ebenso wie Traubenzucker verwenden kann.

Aus den genannten Beispielen geht zur Genüge hervor, daß die verschiedenen Gewebe derselben Tierart und auch das gleiche Gewebe verschiedener, einander nahestehender Tierarten ein und dieselbe Zuckerart bald stark, bald schwach oder gar nicht abbauen. Darüber hinaus scheinen in den Versuchen dieser Arbeit Anhaltspunkte dafür vorhanden zu sein, daß auch ein bestimmtes, von ein und derselben Tierart stammendes Gewebe bezüglich der Milchsäurebildung aus ein und derselben Substanz sich individuell recht verschieden verhalten kann.

Über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper.

II. Mitteilung.

Von

Gustav Embden und Max Oppenheimer.

(Aus dem Städtischen chemisch-physiologischen Institut, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 4. August 1913.)

In einer früheren Arbeit[1]) konnten wir zeigen, daß Brenztraubensäure bei der Durchblutung der glykogenfreien Leber sich als ein, wenn auch nicht allzu starker und nicht völlig regelmäßiger Acetessigsäurebildner erweist. Wir sprachen damals die Ansicht aus, daß die Acetessigsäurebildung eine auf dem Nebenwege des Kohlenhydratabbaues im Tierkörper liegende Reaktion sein müsse, indem der auf dem Hauptwege aus Brenztraubensäure unter Kohlensäureabspaltung gebildete Acetaldehyd sich zu Aldol kondensiert, das dann in der bekannten Weise über β-Oxybuttersäure zu Acetessigsäure oxydiert wird.

Die Untersuchungen von Embden und Schmitz[2]) zeigten weiterhin, daß Brenztraubensäure und auch Milchsäure in Form ihrer Ammoniaksalze beim Leberdurchblutungsversuche zum Teil in d-Alanin übergehen, während andererseits unter denselben Versuchsbedingungen nach Embden und Kraus[3]) Alanin in d-Milchsäure umgewandelt wird.

Ebenso wie für die Aminierung von Milchsäure zu d-Alanin nahmen wir in Übereinstimmung mit den früher von O. Neubauer[4]) begründeten Anschauungen für die Desaminierung von

---

[1]) G. Embden und Max Oppenheimer, Über den Abbau der Brenztraubensäure im Tierkörper. Diese Zeitschr. **45**, 186, 1912.

[2]) Embden und Schmitz, Über synthetische Bildung von Aminosäuren in der Leber. Diese Zeitschr. **38**, 393, 1912.

[3]) Embden und Kraus, Über Milchsäurebildung in der künstlich durchströmten Leber. Diese Zeitschr. **45**, 1, 1912.

[4]) O. Neubauer, Arch. f. klin. Med. **95**, 211, 1909.

Alanin zu d-Milchsäure Brenztraubensäure als Zwischenprodukt an. Wir betrachteten demnach diese Substanz als ein auf dem Hauptwege des Kohlenhydratabbaues, wie auch des Alaninabbaues gelegenes Zwischenprodukt.

Wenn nun unsere Auffassung speziell über den Abbau des Alanins richtig ist und der Weg von Alanin zu Milchsäure über Brenztraubensäure führt, so ist von vornherein wahrscheinlich, daß auch Brenztraubensäure selbst im Tierkörper in Milchsäure umgewandelt werden kann, also auch die Etappe im Kohlenhydratabbau: Milchsäure ⟶ Brenztraubensäure umkehrbar ist.

Für diese Annahme sprechen auch noch unveröffentlichte Versuche des einen von uns (Embden), bei denen es gelang, im Tierkörper Phenylbrenztraubensäure in Phenyl-α-Milchsäure überzuführen, des weiteren die Ergebnisse der Versuche von Paul Mayer[1]), der fand, daß normal ernährte Kaninchen nach Verabfolgung größerer Mengen Brenztraubensäure als Na-Salz im Harn u. a. auch Milchsäure ausschieden.

Dagegen gelang es Paul Mayer bei seinen weiteren Untersuchungen[2]) an phlorizindiabetischen Tieren nicht, die Zuckerausscheidung nach Darreichung von Brenztraubensäure zu erhöhen. Er führte diesen Mißerfolg selbst auf eine durch die Brenztraubensäure verursachte Nierenschädigung zurück.

Zum entgegengesetzten Resultate kommen in einer neuerdings veröffentlichten Untersuchung Dakin und Janney[3]), die das negative Ergebnis der Mayerschen Versuche auf Polymerisation der angewandten Brenztraubensäure zurückführen. Sie selbst erhielten bei Darreichung geeigneter Mengen Brenztraubensäure in Form ihres Na-Salzes an diabetische Tiere sowie an Zuckerkranke eine bedeutende Menge „Extra-Glucose", die ausblieb bei Anwendung polymerisierter Brenztraubensäure. Da sie dieselbe Zuckererhöhung auch bei Verabfolgung von Milchsäure erhielten, nehmen sie auf Grund ihrer Versuchs-

[1]) P. Mayer, Über Brenztraubensäureglucosurie und über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper. Diese Zeitschr. 40, 441, 1912.

[2]) P. Mayer, Weitere Untersuchungen über die Brenztraubensäureglucosurie. Diese Zeitschr. 49, 486, 1913.

[3]) H. C. Dakin and N. W. Janney, The biochemical relation between pyruvic acid and glucose. Journ. of Biolog. Chem. 15, 177, 1913.

ergebnisse an, daß die Brenztraubensäure ihren Weg zu Glucose über Milchsäure nehmen müsse, was ganz mit der schon früher von uns (l. c.) ausgesprochenen Ansicht übereinstimmt.

Ringer[1]) dagegen kommt in einer gleichzeitig erschienenen Arbeit zu dem Schlusse, daß in dem Prozeß des Alaninabbaues Brenztraubensäure nicht das hauptsächliche Zwischenprodukt sein könne und daß Alanin nicht der oxydativen Desaminierung unterliege, und zwar deshalb, weil Brenztraubensäure bei seinen Versuchen an phlorizinierten Hunden unregelmäßig und nicht in dem Maße wie Alanin und Milchsäure Glucose bildete. Doch scheinen uns die regelmäßig positiven Ergebnisse Dakins und Janneys beweisender zu sein als die schwankenden Resultate Ringers.

Tschernorutzky[2]) wiederum dachte bei seinen Versuchen über die Umwandlung der Brenztraubensäure durch einzelne Organe an die Bildung von Milchsäure, ohne diese jedoch nachzuweisen.

Tabelle.

Versuchs-Nr.	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblute zugefügte Substanz	Aus dem Gewicht des Zinksalzes berechnete Menge Milchsäure pro 100 ccm Blut: Blut A g		Blut B g		Neugebildete Milchsäure: pro 100 ccm Blut g	in Proz. des Ausgangswertes
1	7,7	140	1600	60	6,7 g Brenztraubensäure m. NH_3 neutr.	0,0234 0,0251	0,0242	0,0657 0,0652	0,0654	+ 0,0412	+ 170
2	4,5	126	1600	60	6,0 g Brenztraubensäure m. NH_3 neutr.	0,0340 0,0345	0,0342	0,0540 0,0722	0,0631	+ 0,0289	+ 84
3	5,7	135	1600	60	6,0 g Brenztraubensäure m. NaOH neutr.	0,0295 0,0242	0,0268	0,0599 0,0603	0,0601	+ 0,0333	+ 134

Der direkte Beweis der Bildung von Milchsäure aus Brenztraubensäure im tierischen Organismus stand nach all dem noch aus, und wir suchten denselben daher durch den Nachweis zu erbringen, daß Brenztraubensäure bei der Durch-

[1]) A. I. Ringer, The rôle of pyruvic acid in the intermediary metabolism of alanine. Journ. of Biolog. Chem. **15**, 145, 1913.

[2]) M. Tschernorutzky, Über die Zerlegung von Brenztraubensäure durch tierische Organe. Diese Zeitschr. **43**, 486, 1912.

blutung der glykogenarmen Leber Milchsäure bilden kann.

In einer Reihe von Durchblutungsversuchen, die an der Hundeleber nach 4tägigem Hunger der Versuchstiere vorgenommen wurden, gelang es uns nun in der Tat, bei Zusatz von Brenztraubensäure zum Durchblutungsblute eine deutliche Erhöhung des Milchsäurewertes nachzuweisen.

Wie die Tabelle zeigt, ist in Versuch 1 die Milchsäuremenge fast auf das Dreifache gestiegen, in Versuch 2 beinahe auf das Doppelte und in Versuch 3 auf mehr als das Doppelte der vorgebildeten Menge. Verglichen mit der Milchsäurebildung, die Embden und Kraus[1]) aus Alanin erhielten, ist die absolute Vermehrung von sehr ähnlicher Größe, die prozentische in einem Versuche (2) die gleiche, in den beiden anderen sogar erheblich höher: während Embden und Kraus eine maximale Zunahme von 107% des Ausgangswertes erzielten, war unsere Höchstzunahme 170% desselben Wertes. Diese stärkere Zunahme an Milchsäure ist leicht erklärlich, steht doch die Brenztraubensäure in unserm Schema der Milchsäure näher als das Alanin.

Die aus dem Durchblutungsblute erhaltene Milchsäure war optisch aktiv, und zwar d-Milchsäure, wie die Krystallwasserbestimmung und die polarimetrische Untersuchung der Zinklactate zeigte.

Das Lactat aus zwei Versuchen wurde nochmals in der üblichen Weise umkrystallisiert und zunächst zu einer Krystallwasserbestimmung benutzt.

0,2615 g Substanz verloren . . . 0,0332 g Waser.
Berechnet für d-milchsaures Zink 12,89% H_2O.
Gefunden . . . . . 12,69% H_2O.

Alsdann wurde das Zinksalz auf sein optisches Verhalten untersucht.

0,2283 g wasserfreies Zinksalz wurden in Wasser gelöst und unter Benutzung eines 3teiligen Apparates nach Landolt im 2-dcm-Rohr polarisiert.

Gewicht der Lösung . . . . . 14,0240 g
Spez. Gewicht (bei 28,5°) 1,007
Drehung der Lösung (bei 27°) . . — 0,30°
Prozentgehalt der Lösung 1,639

[1]) l. c. S. 16.

Daraus berechnet

$$[\alpha]_D^{27} = -9{,}15^0.$$

Eine zum Vergleiche mit reinem, aus Fleischextrakt dargestelltem Zinklactate hergestellte Lösung von fast derselben Konzentration gab einen sehr ähnlichen Wert:

Gewicht der Lösung	36,3006 g
enthaltend wasserfreies Zinklactat.	0,5749 g
Spez. Gewicht der Lösung	1,020
Drehung der Lösung (bei 19°) . .	−0,31°
Prozentgehalt der Lösung	1,614

Daraus berechnet

$$[\alpha]_D^{19} = -9{,}48^0.$$

Methodisches.

Die Versuchsanordnung war genau dieselbe wie bei unserer ersten Mitteilung. Die für die Versuche frisch im Vakuum destillierte Brenztraubensäure (Kahlbaum) wurde teils mit Ammoniak, teils mit Natronlauge neutralisiert. Zur Durchblutung, die in allen Fällen 1 Stunde dauerte, wurden jeweils 1600 ccm Rinderblut verwandt. Das Blut wurde nach dem Versuche in der üblichen Weise nach Schenck gefällt, das Filtrat entquecksilbert und durchlüftet und nach dem Filtrieren je 1200 ccm schwach sauer im Vakuum bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur des Heißwassers eingeengt und im Lindschen Apparate unter Zusatz von Ammonsulfat und Phosphorsäure erschöpfend ausgeäthert.

Während die Weiterbehandlung des A-Blutes (Blut vor der Durchblutung) zum Zwecke der Überführung in das Zinksalz der vorgebildeten Milchsäure in der üblichen Weise erfolgen konnte, war für die Bestimmung der Milchsäure des B-Blutes (i. e. des Blutes nach der Durchströmung) eine Modifikation notwendig, da sich im Ätherextrakte neben der Milchsäure unveränderte Brenztraubensäure befinden konnte.

Zur Trennung der Brenztraubensäure von der Milchsäure wurde die auch schon von Neubauer[1]) zum gleichen Zwecke benutzte Eigenschaft der α-Ketonsäuren herangezogen, mit Natriumbisulfit Verbindungen einzugehen, die in Äther nicht

[1]) Neubauer und Fromherz, Über den Abbau der Aminosäuren bei der Hefegärung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 320, 1911. — Vgl. auch Abderhalden, Biochem. Arbeitsmethoden 5, 1195.

löslich sind. Der mit krystallwasserfreiem Natriumsulfat getrocknete und filtrierte Ätherextrakt, der Brenztraubensäure und Milchsäure nebeneinander enthielt, wurde, nach dem Abdestillieren des Äthers unter dem üblichen Zusatze von zirka 40 ccm Wasser, mit 40 ccm 20%iger Natriumbisulfitlösung versetzt und nach etwa 1stündigem Stehen unter entsprechender Verdünnung und nach Zusatz von 90 g Ammonsulfat weitere 40 Stunden mit Äther extrahiert. Dann wurde die Ätherlösung in der früher beschriebenen Weise weiterbehandelt und schließlich das Zinklactat zur Wägung dargestellt. Das gewonnene Zinklactat wurde wiederholt umgelöst, um es vor der Wägung noch von Spuren eines unlöslichen, weißen, flockigen Rückstandes zu befreien. Bei einem Versuche wurde sogar zur besonderen Sicherheit noch eine dritte Ätherextraktion des bereits dargestellten Lactates vorgenommen. Daß auf diese Weise das gewogene Zinklactat völlig frei war von Brenztraubensäure, beweist neben dem Analysenresultate auch der Umstand, daß seine essigsaure Lösung mit p-Nitrophenylhydrazin keinen Niederschlag des Hydrazons gab, das bei Gegenwart von Brenztraubensäure hätte entstehen müssen.

Daß die schließlich als Zinksalz gewogene Milchsäure wirklich während der Leberdurchblutung und nicht erst durch die nachfolgende chemische Verarbeitung entstanden ist, beweist mit voller Sicherheit seine Eigenschaft als reines d-Lactat. Aus dem Auftreten reiner d-Milchsäure während der Durchblutung geht auch mit aller Bestimmtheit hervor, daß die Milchsäure durch die Tätigkeit der tierischen Zellen und nicht durch irgendwelche bakterielle Verunreinigung, die bei den 1stündigen Versuchen ohnehin nicht in Betracht kommen konnte, gebildet wurde.

Einfluß chronischer Unterernährung auf den Stoffwechsel.

Versuche von S. Morgulis (Harward University, Cambridge Mass.) und M. Diakow (St. Petersburg).

Referiert von

N. Zuntz.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 11. August 1913.)

Im Beginn des Jahres 1912 übernahm Dr. Morgulis die Ausführung einer Versuchsserie am Hunde, welche über den Einfluß möglichst protrahierter Unterernährung auf den Energiebedarf des Tieres Aufschluß geben sollte. Wir wissen, daß bei vollständiger Nahrungsentziehung der Erhaltungsumsatz nicht einmal in gleichem Maße wie das Körpergewicht absinkt; nur in sehr vorgerücktem Stadium des Hungers machte sich ein gewisser Nachlaß der Verbrennungsprozesse bemerkbar[1]).

In vieler Hinsicht für die Pathologie bedeutungsvoller als der absolute Hunger sind die Zustände der Unterernährung, in denen dauernd weniger Nahrung zugeführt wird, als dem Bedarf entspricht und sich demzufolge ein allmählicher Verzehr der Organbestandteile vollzieht. Man hat wohl vielfach angenommen, daß unter solchen Umständen eine allmähliche Anpassung des Stoffwechsels an die ungenügende Zufuhr stattfinde, daß also der Körper sich der verminderten Ernährung in seinem Verbrauche anpasse, ähnlich wie etwa beim Winter-

[1]) v. Noorden, Pathol. d. Stoffw. I, S. 480. — Brugsch in Oppenheimers Handb. d. Biochem. IV, 1, S. 285; Loewy, ebenda S. 173. — Benedict, Influence of inanition on Metabolism, Washington 1907, wo die Literatur am vollständigsten verarbeitet ist. — Rubner, Gesetze des Energieverbrauchs. Leipzig 1902. S. 296ff.

schläfer eine Anpassung an lange dauernde Hungerzustände besteht.

Von exakten hierher gehörigen Versuchen möchte ich den von Caspari im hiesigen Institut an Hauptmann H. ausgeführten erwähnen[1]). Hier sank bei monatelang durchgeführter ausschließlicher Ernährung mit täglich 1 kg Früchte (Weintrauben, Äpfel, Feigen) die Stickstoffausscheidung im Harn bis auf 2,185 g pro Tag, während der Brennwert der resorbierten, fast nur aus Kohlenhydraten bestehenden Nahrung bis auf 12 Cal pro Kilogramm und Tag in Periode I zurückging.

Die Größe des Erhaltungsumsatzes ließ sich leider nicht genau feststellen, weil die Respirationsversuche an der Unruhe des Mannes scheiterten. Gerade diese Lücke unseres Wissens veranlaßte mich, Herrn Dr. Morgulis die Bearbeitung des Themas anzuraten. Der Versuch wurde an einer in mittlerem Ernährungszustande befindlichen Hündin damit begonnen, daß man an ihr einige Respirationsversuche von längerer Dauer bei einer den Bedarf annähernd deckenden Ernährung ausführte; dann begann die Unterernährung, die aber lange nicht so weit hinter dem Bedarf des Tieres zurückblieb als in den ersten Perioden des Casparischen Versuchs an H.

Der exakte Versuch begann am 25. Januar 1912 bei einem Körpergewicht von 10,0 kg und endete mehr als 1 Jahr später am 12. Februar 1913 mit dem Tode des Tieres bei einem Gewicht von 4,19 kg, d. h. nach Verlust von 58,1 % des Anfangsgewichts. Das niedrigste Gewicht, 3,97 kg, entsprechend 60,3 % Verlust, wurde am 2. Februar gefunden. Der Gewichtsverlust bis zum Tode ist stärker als er in der Regel bei akuter Inanition beobachtet wurde, und kommt dem höchsten hierbei festgestellten von 65 % nahe[2]), obgleich das Tier zu Beginn des Versuchs durchaus nicht fett war. Schon längere Zeit vor dem Ende blieb die Körpertemperatur des Tieres erheblich unter der Norm.

Über die erste von Herrn Morgulis studierte halbjährige Periode gibt Tabelle I Auskunft.

---

[1]) W. Caspari, Physiologische Studien über Vegetarismus. Arch. f. d. ges. Physiol. **109**, 487.

[2]) Kumagawa und Miura, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1888, 431.

Tabelle I.

Übersicht der Stickstoffbilanz und des Gaswechsels des Hundes.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Versuch	Datum 1912	Körpergewicht kg	Regime	Stickstoffbilanz g	Gewichtsverlust %	Temperatur (im Kasten) °C	Exhaliertes Wasser g	Dauer des Versuchs Min.	CO_2-Produktion pro Min. ccm	CO_2-Produktion pro Min. u. 1 kg ccm	O_2-Verbrauch pro Min. ccm	O_2-Verbrauch pro Min. u. 1 kg ccm	Respiratorischer Quotient	Calorien für 24 Std. Zufuhr	Calorien für 24 Std. Ausgabe	Calorien für 24 Std. und 1 kg Gewicht Zufuhr	Calorien für 24 Std. und 1 kg Gewicht Ausgabe	Calorienausgabe pro 24 Std. und 1 qm Oberfläche	N-Bilanz im Respirationskasten
1[1])	25. I.	9,85	150 g Pferdefleisch, 80 g Reis	+ 0,982	—	18,75	75,8	493	52,51	5,38	76,98	7,89	0,68	465	529	47,2	53,7	1024	— 1,819
2[2])	16. II.	10,05			—	16,55	42,3	460	56,63	5,72	86,67	8,76	0,65	465	595	46,3	59,2	1142	+ 0,263
3	23.	9,65		Gleichgew.	—	15,30	80,3	390	48,73	5,13	77,96	8,21	0,62	465	536	48,2	55,6	1046	+ 0,192
5	18. IV.	7,78	60 g Fleisch, 35 g Reis	— 0,136	19,4	14,95	92,3	360	37,80	4,88	57,30	7,40	0,66	197	394	25,3	50,6	890	— 1,848
6	2. V.	7,55	65 g Fleisch, 35 g Reis	— 0,210	21,8	14,85	100,4	360	36,80	4,90	51,66	6,88	0,71	203	355	26,9	47,0	819	— 1,339
7	23.	7,18	60 g Feisch, 35 g Reis	— 0,033	25,6	31,45	170,3	380	34,50	4,83	45,96	6,43	0,75	197	316	27,4	44,0	754	+ 0,199
8	6. VI.	7,10			26,4	30,45	123,5	355	34,48	4,88	44,35	6,27	0,78	197	305	27,8	43,0	732	— 0,285
9[3])	20.	6,96			27,9	16,00	88,6	355	40,22	5,85	53,54	7,78	0,75	197	368	28,3	52,9	893	— 0,148
10	20. VII.	6,36	55 g Fleisch, 30 g Reis + 2 g Nährsalz		34,2	32,10	133,0	410	28,79	4,53	43,23	6,80	0,67	169	297	26,6	46,7	766	+ 0,332
	10. X.	5,50																	
	11.	5,55																	
	12.	5,50																	

[1]) Unruhig während des Anfangs des Versuchs. — [2]) Tier unruhig. — [3]) Sehr unruhig.

Sie enthält neben den nötigen Daten über die Ernährung und das Körpergewicht das Endergebnis von 5 Versuchsreihen, in denen durch Bestimmung der Ausscheidungen in Harn und Kot die Stickstoffbilanz ermittelt wurde, sowie die wesentlichsten Daten von 9 Respirationsversuchen, die im kleinen Regnault-Reiset-Apparat des Instituts am nüchternen Tiere ausgeführt wurden.

Zur Kritik dieser Versuche dient die Angabe der letzten Kolonne über die Stickstoffbilanz im Respirationskasten. Wir wissen mit Sicherheit, daß die Versuchstiere weder gasförmigen Stickstoff ausscheiden noch aufnehmen. Die Differenz zwischen den am Anfang und Schluß des Versuchs gefundenen Stickstoffmengen sind also (natürlich nach Berücksichtigung des mit dem Sauerstoff in den Kasten eingeführten Stickstoffs) ein Maß der Versuchsfehler. Diese Fehler sollten, selbst wenn die Fehler der Analyse am Anfang und am Ende des Versuchs sowie bei der Kontrolle des eingeströmten Sauerstoffs alle im selben Sinne gelegen hätten, nicht ± 150 ccm übersteigen. Die Fehler durch unvollkommenen Ausgleich der Temperatur sind bei unserem jetzigen Verfahren, den Versuch erst zu beginnen, nachdem die Luftzirkulation und die Absorption der Kohlensäure in der Lauge wenigstens eine halbe Stunde im Gange ist, sehr gering, und sie können kaum größere Fehler als ± 200 ccm N bedingen. Diese Fehler kann man für die Berechnung der Sauerstoffaufnahme ausgleichen, wenn man annimmt, daß entsprechend dem infolge Fehlers der Temperaturmessung falsch gefundenen Stickstoff etwa $^1/_4$ dieser Stickstoffmenge an Sauerstoff in gleichem Sinne falsch gefunden wurde.

Nun sind aber die Fehler der Stickstoffbilanz in Versuch 1, 4 und 5 bei weitem größer, als man sie nach vorstehendem erwarten sollte. Es ist wahrscheinlich, daß hier im Laufe des Versuchs Luft aus dem Kasten entwichen ist. Obwohl der Apparat allseitig unter Wasser versenkt ist, konnte ein Austreten feiner Gasbläschen besonders deshalb der Beobachtung entgehen, weil das äußere Wasser beständig mit Hilfe von Preßluft durchmischt wird. Deshalb wurde in neuester Zeit stets diese Durchmischung zeitweilig unterbrochen, der Überdruck im Kasten durch Eintreiben von Sauerstoff gesteigert und nun sorgfältig kontrolliert, ob irgendwo Luftblasen aufstiegen.

Wenn die gegebene Erklärung für die negative Stickstoffbilanz richtig ist, muß mit dem Stickstoff etwa $^1/_4$ seines Volumens Sauerstoff entwichen sein, und der Sauerstoffverbrauch wurde um ebensoviel zu hoch gefunden. Das wären in Versuch 1 etwa 454 ccm Sauerstoff, d. h. der Verbrauch von 6 Minuten. Da der Versuch 493 Minuten dauerte, bedeutet der Fehler 1,2% des Sauerstoffverbrauchs; etwas größer ist der Fehler in dem kürzer dauernden Versuch 5, hier entspricht er dem Sauerstoffverbrauch von 8 Minuten, und die Korrektur würde den Sauerstoffverbrauch um 2,24%, d. h. von 7,40 ccm auf 7,23 ccm pro Kilo-

gramm und Minute erniedrigen. Der respiratorische Quotient würde durch diese Korrektur von 0,66 auf 0,675 erhöht.

In einigen Fällen (Versuch 11 und 12), wo zuviel Stickstoff gefunden wurde, ist wahrscheinlich etwas Luft an der Dichtung der Ventilatorachse eingedrungen.

Weiter ist zum Verständnis der Tabelle anzuführen, daß die Calorienzufuhr berechnet wurde, indem man ansetzte:

100 g Pferdefleisch = 113 Cal
100 g Reis = 357 „

Bei der Berechnung der Energieabgabe, die jedoch für die ganze Versuchszeit nur eine annähernd genaue sein konnte, weil das Tier wohl schwerlich im Respirationsapparat genau dasselbe Ausmaß von Bewegungen vollführte wie in seinem Stall, wurde auf den wechselnden respiratorischen Quotienten keine Rücksicht genommen, vielmehr immer 1 ccm Sauerstoff gleich 4,77 Cal gerechnet. Das Auftreten von respiratorischen Quotienten, die unter dem Werte der Fettverbrennung liegen (Versuch 1 bis 5), und wieder Versuch 10 ist eine Erscheinung, die wir an hungernden Menschen und Tieren bei direkter Untersuchung der Lungenatmung ebenso wie im Regnault-Reiset-Apparat beobachten und welche besonders hervortritt, wenn die Versuchsindividuen absolute Muskelruhe beobachten[1]). Zur Berechnung des Umsatzes auf die Körperoberfläche (Kol. 19) diente der Meehsche Faktor 11,3.

Die ersten Respirationsversuche wurden absichtlich bei niedrigen Temperaturen (vgl. Kolonne 7), die etwa der Durchschnittstemperatur von Tag und Nacht im Tierstall entsprachen, ausgeführt; so mußten sie den wahren Verbrauch des Tieres zum Ausdruck bringen, der nur durch die zur Zeit des Respirationsversuchs beendete Verdauungsarbeit bei dem anfänglichen Futter von 150 g Fleisch und 80 g Reis um noch etwa 55 Cal pro Tag erhöht wurde; so haben wir im Mittel der drei ersten Respirationsversuche 553 + 55 = 608 Cal-Verbrauch

gegen = 465 „ in d. Nahrung

tägliche Zubuße des Körpers = 143 Cal.

[1]) Vgl. Untersuchungen an zwei hungernden Menschen. Virchows Archiv 131. Suppl. 1893. Ferner zahlreiche Versuche aus dem hiesigen Institut an hungernden Hunden, besonders nach ausschließlicher Fleisch- und Fettkost, sowie demnächst im Arch. f. d. ges. Physiol. erscheinende Versuche von Gerhartz am Huhn.

Trotz dieses Mangels an Nährmaterial bestand in der ersten Zeit Stickstoffansatz, der mehr als den Nachwuchs der Epidermisgebilde deckte, später N-Gleichgewicht.

Das Defizit an Brennmaterial wurde also ausschließlich durch Körperfett gedeckt, dessen Verlust auf täglich $\frac{143}{9{,}5} = 15$ g zu veranschlagen ist, also 450 g für den Monat. Dem entspricht, daß das Körpergewicht zwischen 10,05 und 9,65 kg schwankte. Nunmehr wurde das Futter erheblich reduziert auf 60 g Fleisch und 35 g Reis, wobei die Verdauungsarbeit auf 23 Cal zu veranschlagen ist. Das Caloriendefizit beträgt in Versuch 5 197 Cal + 23 Cal = 220 Cal. Nunmehr ist die N-Bilanz schwach negativ — 0,136, so daß wir mit den Epidermisverlusten die tägliche N-Abgabe des Körpers auf 0,3 g veranschlagen können, das entspricht 9 g Fleischverlust gleich 7,5 Cal aus Fleisch, es sind also noch 212,5 Cal zu decken, wozu 22,4 g Körperfett gebraucht werden. Der Gewichtsverlust sollte also täglich 31,4 g oder in den 54 Tagen vom 23. Februar bis 18. April 1696 g betragen; 9,65 — 1,70 = 7,95 kg; faktisch war das Gewicht am 18. April gleich 7,78 kg.

Jetzt wurde die Fleischmenge um 5 g erhöht; trotzdem wurde die N-Bilanz etwas stärker negativ — 0,21 g pro die. Wir werden also den N-Verlust des Körpers auf 0,4 g veranschlagen, entsprechend 12 g Fleisch und 10 Cal. Der Energieverbrauch ist auf 355 Cal, also der Tagesverlust auf 152 Cal zu veranschlagen oder zuzüglich 23 Cal Verdauungsarbeit 175 Cal, wovon 165 durch Fett zu decken sind gleich 17,4 g Fett, also zuzüglich 12 g Fleisch, ein Gewichtsverlust von 29,4 g gleich 412 g in 14 Tagen, die, vom berechneten Gewicht am 18. April (7,95 kg) abgezogen, das Gewicht auf 7,53 kg berechnen lassen; faktisch war das Gewicht am 2. Mai gleich 7,55 kg.

Jetzt wurde die Fleischration wieder auf 60 g reduziert, trotzdem gestaltete sich die N-Bilanz günstiger (— 0,033 g pro die), so daß wir mit einem wirklichen N-Verlust von 0,2 g pro die zu rechnen haben, entsprechend 6 g Fleisch mit 5 Cal.

Für die Energiebilanz kommen die zwei mit Ausschaltung der chemischen Wärmeregulation durchgeführten Versuche 7 und 8 nicht in Betracht. Wir mitteln

Versuch 6 mit 152 Cal Verlust pro die
und „ 9 „ 171 „ „ „ „
Mittel 161 Cal Verlust pro die.

Hierzu kommen

für Verdauungsarbeit 23 „
also im ganzen 184 Cal
ab für Eiweiß 5 „
aus Fett zu decken . . 179 Cal = 18,8 g Fett, so daß zuzüglich 6 g Fleisch ein täglicher Verlust von 24,8 g zu erwarten ist, also für die 49 Tage bis 20. Juni 1215 g: 7,53 — 1,215 = 6,315; faktisch war das Gewicht am 20. Juni 6,96, also der Verlust viel geringer als berechnet.

Das dürfte sich daraus erklären, daß das Tier am 20. Juni (Versuch 9) sehr unruhig war und deshalb für die Oberflächeneinheit 74 Cal mehr brauchte als in Versuch 6 bei ähnlicher Temperatur. Es kommt hinzu, daß inzwischen Sommerwärme eingetreten war, das Tier sich also durchschnittlich in viel wärmerer Luft befand als in den Respirationsversuchen 6 und 9. Wir werden deshalb ein richtigeres Bild des Stoffwechsels gewinnen, wenn wir Versuch 6, 7 und 8 mitteln, d. h. einen Versuch bei niedriger und zwei bei hoher Temperatur, welche die chemische Wärmeregulation ausschließt. Wir haben dann im Mittel

eine Abgabe von . . . . 325 Cal
„ Zufuhr „ . . . . 199 „
also Verlust . 126 Cal
dazu für Verdauungsarbeit 23 „
149 Cal.

Wir werden ferner annehmen müssen, daß in dieser ganzen Periode N-Gleichgewicht herrschte, also kein Körperfleisch verloren ging; dann entspricht den 149 Cal ein täglicher Verlust von 15,7 g Fett oder 769 g in den 49 Tagen bis zum 20. Juni, wodurch das Gewicht von 7,53 auf 6,76 kg vermindert würde. Es betrug in Wirklichkeit am 20. Juni etwas mehr, 6,96 kg, durchaus entsprechend der Annahme, daß in dieser ganzen Zeit kein N-Verlust stattfand.

Von diesem Tage an wurde die Fleischration und der Reis um je 5 g vermindert. Die Calorienzufuhr sank dadurch

Tabelle II.

Respirationsversuche in der späteren Zeit der chronischen Unterernährung.

Versuchs-Nr.	Datum 1912	Körpergewicht kg	Gewichtsverlust %	Temperatur im Resp.-Kasten °C	Dauer des Versuchs Min.	Exhaliertes Wasser g	CO_2-Produktion pro Min. ccm	CO_2-Produktion pro 1 kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro Min. ccm	O_2-Verbrauch pro 1 kg u. Min. ccm	Respiratorischer Quotient	Calorien in 24 Stunden Zufuhr	Calorien in 24 Stunden Ausgabe	Calorien in 24 Stunden pro 1 kg Zufuhr	Calorien in 24 Stunden pro 1 kg Ausgabe	Calorienausgabe pro 24 Std. und 1 qm Oberfläche	N-Bilanz im Resp.-Kasten l	Bemerkungen
11	18. X.	5,41	45,9	28,85	449	46,7	28,05	5,21	38,62	7,14	0,73	169	265	31,2	49,0	762	+ 1,258	Tier unruhig.
12	24.	5,38	46,2	29,12	1279	138,2	24,66	4,58	31,95	5,94	0,77	169	219	31,4	40,8	632	+ 1,276	„ i. d. erst. Stdn. unruhig.
13	22. XI.	4,98	50,2	30,02	1187	84,3	21,89	4,40	30,29	6,08	0,72	169	208	33,9	41,8	631	+ 0,404	Tier ruhig.
14[1]	1913 18. I.	4,10	59,0	30,20	336	67,2	26,26	6,41	35,77	8,72	0,73	264	246	64,5	59,9	849	— 0,162	Tier ruhig.
15	29.	4,13	58,7	28,95	537	87,2	28,48	6,90	38,99	9,44	0,73	169	268	40,9	64,9	921	— 0,350	

[1]) Zum bisherigen Futter 10 g Sohmalz.

auf 169 Cal, die Verdauungsarbeit auf 21 Cal. Die vom Körpermaterial zu bestreitende Energiemenge betrug, wenn wir entsprechend der Sommertemperatur den bei 32° ausgeführten Respirationsversuch vom 20. Juli zugrunde legen, 297 + 21 — 169 = 149 Cal. Die Stickstoffbilanz wurde in dieser Periode nicht ermittelt. Aus der geringeren Abnahme des Körpergewichts aber ergibt sich, daß noch immer N-Gleichgewicht bestand. Dem Verlust von 149 Cal. entsprechen 15,7 g Fett pro Tag oder 471 g für die 30 Tage bis zum 20. Juli, dadurch würde das für den 20. Juni berechnete Körpergewicht von 6,76 auf 6,29 kg oder das an diesem Tage faktisch vorhandene 6,96 auf 6,49 kg absinken. Das Gewicht am 20. Juli lag zwischen diesen beiden Zahlen bei 6,36 kg.

Vom 20. Juli bis 21. November wurde das Tier mit dem in größerer Menge konservierten Futter der letzten Reihe ernährt unter regel-

mäßiger Zugabe von täglich 2 g Salzmischung ($NaCl + K_2HPO_4 + Ca_2CO_2 + Fe_2O_3$). Am 10., 11. und 12. Oktober ermittelte ich das Körpergewicht zu 5,50, 5,55, 5,50 kg, es hatte also ein Verlust von 0,84 kg stattgefunden. Am 18. Oktober betrug das Gewicht 5,45 kg. An diesem Tage machte Dr. Diakow den ersten der in Tabelle II zusammengestellten 5 Respirationsversuche; bei Ausschluß der chemischen Wärmeregulation stellte sich der Verbrauch auf 265,2 Cal. Der Verbrauch für die ganzen 90 Tage (20. Juli bis 18. Oktober) beträgt in minimo das Mittel jener beiden Respirationsversuche

$$\frac{297 + 265}{2} = 281 \text{ Cal} + 21 \text{ Cal für Verdauungsarbeit} = 302 \text{ Cal},$$

also bei 169 Cal Zufuhr ein tägliches Manko von 133 Cal, das durch 14 g Körperfett zu decken wäre. Wir hätten also einen Fettverlust von $14 \times 90 = 1260$ g zu erwarten. Der Gewichtsverlust betrug $6{,}36 - 5{,}41 = 0{,}95$ kg. Abermals bleibt also der Gewichtsverlust sogar hinter der Zahl zurück, die wir bei ausschließlicher Beanspruchung des Körperfettes erwarten müßten; es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß der Körper in diesem Stadium der chronischen Unterernährung wesentlich wasserreicher wird. Wir können daher mangels direkter Bestimmung der Stickstoffbilanz nichts über den N-Verlust des Körpers, also über den Grad der Beanspruchung der stickstoffhaltigen Gewebe, aussagen.

Die Nahrungszufuhr blieb unverändert bis zum 8. Januar 1913. Das Verhalten des Körpergewichts in diesen 82 Tagen zeigt Tabelle III. Der Gewichtsverlust beträgt 1400 g gleich 17,1 g pro Tag. Wenn wir das Mittel der Respirationsversuche 11 bis 13 nehmen, finden wir im nüchternen Zustande und bei Ausschaltung der chemischen Wärmeregulation einen Verbrauch von 231 Cal bei 169 Cal Zufuhr. Der vom Körperbestand zu deckende Mehrverbrauch beträgt also 62 Cal + 21 Cal für Verdauungsarbeit gleich 83 Cal, die durch 8,7 g Körperfett gedeckt werden konnten. Hinzu kommt die Steigerung des Verbrauchs infolge der niedrigen Umgebungstemperatur. Wir können dieselbe aus dem Vergleich der bei 30 bis 32° ausgeführten Respirationsversuche mit denen bei 15 bis 16° berechnen. Letztere (5, 6 und 9) ergeben im Mittel 50,2 Cal pro Kilogramm, erstere (7, 8 und 10) 44,4 Cal. Die niedrigere Temperatur bedingt also

Tabelle III.

Verhalten des Körpergewichts.

Monat	Gewicht	Monat	Gewicht	Monat	Gewicht
Oktober		November		Dezember	
26.	5,19	19.	5,14	13.	4,76
27.	5,22	20.	5,10	14.	4,73
28.	5,20	21.	5,10	15.	4,70
29.	5,19	22.	—	16.	4,67
30.	5,19	23.	—	17.	4,65
31.	5,10	24.	5,10	18.	4,62
		25.	5,08	19.	4,60
November		26.	5,08	20.	4,61
1.	5,18	27.	5,05	21.	4,55
2.	5,17	28.	5,06	22.	4,58
3.	5,18	29.	5,02	23.	4,57
4.	5,16	30.	4,80	24.	4,55
5.	5,15			25.	4,54
6.	5,13	Dezember		26.	4,50
7.	5,10	1.	4,85	27.	4,45
8.	—	2.	4,80	28.	4,43
9.	5,28	3.	4,85	29.	4,42
10.	5,17	4.	4,85	30.	4,38
11.	5,14	5.	—	31.	4,33
12.	5,12	6.	4,85		
13.	5,10	7.	4,80	Januar	
14.	5,20	8.	4,79	1.	4,30
15.	5,15	9.	4,82	2.	4,30
16.	5,17	10.	4,81	3.	4,28
17.	5,15	11.	4,78	4.	4,27
18.	5,12	12.	4,75	5.	4,26

Nur am 22. November wurden Fleisch und Reis weggelassen und dafür 25 g Schmalz verabreicht (237 Cal statt 169).

für das jetzt etwa 5 kg wiegende Tier einen Mehrverbrauch von $5 \times 5{,}8 = 29{,}0$ Cal gleich 3 g Fett. Der gesamte Energiebedarf entspräche also 11,7 g Körperfettverlust. Der Gewichtsverlust von 17,1 g spricht also in dieser langen Periode entschieden für stärkere Beanspruchung der N-haltigen Gewebe, wenigstens in einem Ausmaß von 6 g Fleisch gleich 0,2 g N pro Tag. Wenn die in der vorigen Periode angedeutete Anreicherung des Körpers mit Wasser, wie wahrscheinlich, noch andauert, würde der Eiweißverlust noch höher zu bemessen sein. Am 8. Januar zeigte das Tier hochgradige Schwäche, und die Körpertemperatur betrug 35,75°. Der Tod schien bevorzustehen, und es wurde deshalb an den nächsten zwei Tagen die Fleischration verdoppelt, worauf das Befinden des Tieres wieder ein gutes wurde. Es blieb aber die von jetzt ab morgens und abends regelmäßig

gemessene Körpertemperatur fast ständig hinter der normalen des Hundes (über 38°) zurück. Durch Zulagen von Fett und gelegentlich, wenn das Tier besonders matt schien, von Fleisch, wurde jetzt für Ernährungsgleichgewicht gesorgt. Wie Tabelle IV

Tabelle IV.

Körpergewicht, Temperatur und Zulagen zum Tagesfutter.

Monat	Gewicht	Temperatur morgens	Temperatur abends	Zulage zum regulären Futter[1])
Januar				
8.	4,05	35,75	36,9	+ 55 g Pferdefleisch
9.	4,13	36,2	37,6	+ 55 g „
10.	3,97	37,7	38,0	+ 10 g Schmalz
11.	4,03	37,5	37,4	+ 10 g „
12.	4,05	37,5	37,6	+ 10 g „
13.	4,10	38,2	37,9	+ 10 g „
14.	4,15	38,4	37,7	+ 10 g „
15.	4,20	38,1	37,7	+ 5 g „
16.	4,09	37,4	37,3	+ 5 g „
17.	4,04	37,0	37,1	+ 10 g „
18.	4,14	37,0	37,1	+ 10 g „ + 55 g Pferdefleisch
19.	4,13	37,9	37,5	+ 10 g Schmalz
20.	4,12	37,5	37,5	+ 10 g „
21.	4,12	37,5	37,5	+ 10 g „
22.	4,12	38,5	37,5	+ 10 g „
23.	4,10	37,5	37,5	+ 10 g „
24.	4,15	37,5	37,5	+ 10 g „
25.	4,17	37,5	37,5	+ 5 g „
26.	4,22	38,7	37,5	+ 5 g „
27.	4,27	36,7	36,7	—
28.	4,23	36,7	36,7	—
29.	4,16	36,5	36,7	+ 10 g „
30.	4,16	37,4	37,2	+ 10 g „
31.	4,09	36,5	36,3	+ 10 g „
Februar				
1.	4,07	37,1	37,5	+ 10 g „ + 55 g Pferdefleisch
2.	4,01	37,1	37,8	+ 10 g Schmalz
3.	4,12	37,7	37,5	+ 10 g „
4.	4,13	37,7	37,7	+ 10 g „
5.	4,16	37,7	37,6	+ 10 g „
6.	4,17	37,7	37,5	+ 10 g „
7.	4,17	37,5	37,5	+ 10 g „
8.	4,18	37,4	37,3	+ 10 g „
9.	4,18	37,5	37,3	+ 10 g „
10.	4,19	37,5	37,1	+ 10 g „
11.	4,19	36,6	36,5	+ 10 g „ + 55 g Pferdefleisch
12.		35,2	gestorben	

[1]) Das reguläre und stets restlos verzehrte Futter war 55 g Pferdefleisch, 30 g Reis und 2 g Nährsalz.

zeigt, nahm das Körpergewicht in den 35 Tagen bis zum Tode am 12. Februar nicht weiter ab, die subnormale Temperatur aber blieb, wenn auch mit gewissen Schwankungen, bestehen. Nur einmal, am 26. Januar, wurden 38,7° gemessen. Die Verdoppelung der Fleischration, die unter dem Eindruck hochgradiger Mattigkeit des Tieres am 8. und 9. und 18. Januar, sowie am 1. und 11. Februar erfolgte, hatte die ersten Male eine sichtliche Kräftigung zur Folge; am 11. Februar aber blieb diese aus, trotzdem die Nahrung anstandslos verzehrt wurde, und das Tier starb unter stetem Absinken der Körpertemperatur am folgenden Tage. — Das Bemerkenswerteste in dieser letzten Phase der chronischen Unterernährung ist die Steigerung des Energiebedarfs trotz abnorm niedriger Körpertemperatur und ganz ruhigen Verhaltens des Tieres in dem auf ca. 30° erwärmten Respirationskasten.

Diese Steigerung beträgt am 18. Januar, verglichen mit dem Mittel von Versuch 12 und 13, volle 45%, am 29. Januar gar 57,1%, obwohl in dem Vergleichsversuch 12 vom 24. Oktober das Tier zeitweise unruhig war.

Wenn wir den Verbrauch in dieser Periode stärkster Unterernährung mit dem Bedarf des normalen Tieres vor einem Jahr, als sein Gewicht $2^1/_2$ mal so groß war, vergleichen, finden wir allerdings die absoluten Zahlen erheblich geringer, 268 Cal gegen 533 Cal im Mittel der Versuche 1 und 3 (Versuch 2 muß wegen Unruhe hier ausgeschaltet werden), aber pro Kilogramm haben wir beim ausgehungerten Tier 64,9 Cal gegen 54,7 Cal in Versuch 1 und 3. Dabei ist zu bedenken, daß letztere Versuche bei einer Temperatur von 18,75° resp. 15,30°, also unter Beanspruchung der chemischen Wärmeregulation ausgeführt wurden.

Aus dem Vergleich der Versuche 7, 8 und 10 mit 5 und 6 (9 ist wegen Unruhe auszuschalten) ergibt sich, daß der Bedarf in der Kälte um 4,2 Cal gesteigert ist, daß also bei Ausschaltung der chemischen Wärmeregulation sich der Bedarf pro Kilogramm anfangs auf 50,5 Cal gestellt hätte, gegen 64,9 Cal im letzten Versuch.

Ob es berechtigt ist, den Energiebedarf durch Multiplikation von $P^{\frac{2}{3}}$ mit einem konstanten Faktor auf die Körperoberfläche zu reduzieren, möchte ich für zweifelhaft halten. Tun wir es,

so muß wieder von dem Anfangsbedarf $\frac{1024 + 1046}{2} = 1035$ Cal der Einfluß der niedrigen Umgebungstemperatur subtrahiert werden. Wir berechnen ihn wiederum aus Versuch 7, 8 und 10 im Vergleich zu 5 und 6 auf 855 — 751 = 104 Cal. Demnach ist der Bedarf des normal genährten Tieres bei ca. 30° gleich 1035 — 104 = 931 Cal, also ganz identisch mit dem Werte kurz vor dem Tode gleich 921 Cal.

Der Energieverbrauch pro 1 qm Oberfläche sinkt also von einem Anfangswert gleich 931 Cal bei 10 kg Körpergewicht bis auf ein Minimum von 631 Cal beim halben Körpergewicht (4,98 kg am 22. November 1913), um gegen Schluß des Lebens bei 4,1 kg Gewicht wieder auf 921 Cal anzusteigen.

Das Sinken der Oxydationsprozesse bei weit vorgeschrittener Inanition steht in Einklang mit manchen Erfahrungen am lange hungernden Menschen. In der Hinsicht besteht also kein typischer Unterschied zwischen dem Stoffwechsel bei chronischer Unterernährung und demjenigen in absolutem Hunger. Die Erwartung, die man namentlich auf Grund mancher Angaben in der klinischen Literatur hegen konnte, daß sich der Verbrauch allmählich dem ungenügenden Nahrungsangebot mehr anpassen würde als bei akuter Inanition, hat sich nicht erfüllt, das Gegenteil zeigt sich in den letzten Stadien des Lebens.

Eine Erklärung für diese prämortale Stoffwechselsteigerung — einem Analogon zu dem viel besprochenen vermehrten Eiweißzerfall gegen Ende des Lebens — zu versuchen, wäre verfrüht. Da die Stickstoffbilanz in dieser Zeit nicht ermittelt wurde, können wir nicht sagen, ob ein zeitlicher Zusammenhang zwischen diesen beiden Erscheinungen besteht. Da der Eiweißbestand des Körpers, wie die Bilanzversuche der ersten Monate beweisen, bei der aus Fleisch und Reis bestehenden Kost nur sehr wenig angegriffen wurde, das Tier also mit einem viel größeren Bestande von Eiweiß als bei komplettem Hunger in das Endstadium eintrat, wäre es sehr wohl möglich, daß nach Verzehren des Fettbestandes die Eiweißvorräte des Körpers jetzt längere Zeit zur Deckung des Mankos in der Nahrung herhalten konnten, und daß bei diesem stärkeren Zerfall von Körpereiweiß die Verbrennungsprozesse gesteigert waren.

Schon zur Klärung der viel diskutierten Lehre von der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes erscheint eine genauere Bearbeitung dieser Verhältnisse, die bereits vorbereitet ist, wünschenswert.

Neben dem erörterten Verhalten des Energieumsatzes möchte ich zum Schlusse noch die Tatsache hervorheben, daß der Gewichtsverlust zeitweise durch Wasseransatz wesentlich niedriger ist, als dem Verlust an Fleisch und Fett entspricht. Das steht in vollem Einklang mit den Erfahrungen, die Ostertag und ich beim Studium der sog. Lecksucht der Rinder gemacht haben. Diese durch gewisse Heusorten bei alleiniger Verfütterung derselben erzeugte Krankheit ist eine hochgradige chronische Unterernährung. Bei der Sektion der eingegangenen Tiere findet man an Stelle des Fettgewebes an Myxödem erinnerndes serös durchtränktes Gewebe. In der Markhöhle des Femur eines solchen Tieres fand sich ein sulziges Gewebe, das nach Dr. Striegels Analyse kein Fett und fast 99% Wasser enthielt.

Die Beeinflussung der endozellularen Wirksamkeit der Leberdiastase durch Pankreasexstirpation.

I. vorläufige Mitteilung.

Von

Ernst J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(Eingegangen am 22. August 1913.)

Die Wirksamkeit der Leberdiastase beim Frosch ist abhängig von der Jahreszeit (Schiff 1859, Grode und Lesser 1913) und wird experimentell bestimmt, indem man unter sorgfältiger Vermeidung von Verletzungen präparierte Organe in Ringerlösung etwa 4 Stunden bei 24° hält und die Abnahme des Glykogens in dieser Zeit mißt.

Im November bis Januar beträgt die Abnahme des Glykogens im Durchschnitt aller Analysen bei einem Glykogengehalt der Leber von 11,3% 0,17 g. Im April bis Juni beträgt bei einem mittleren Glykogengehalt von 6,2% die Abnahme des Glykogens pro 100 g Leber 1,2 g.

Im August beträgt bei einem mittleren Glykogengehalt von 12,8% die Abnahme des Glykogens pro 100 g Leber 0,54 g oder 4,2% des Anfangsglykogens.

Wenn man bei frisch gefangenen Fröschen im August das Pankreas exstirpiert, werden die Tiere stark diabetisch. Dieser Pankreasdiabetes des Frosches zeigt manche Eigentümlichkeiten, die man auch beim menschlichen Diabetes beobachtet, wie Fettinfiltration in der Leber und Glykogenanhäufung in der Niere.

Zwei Tage nach der Exstirpation des Pankreas unternommene Bestimmungen der Wirksamkeit der Leberdiastase zeigen, daß diese nunmehr ebenso groß ist wie in den Frühjahrsmonaten. Die Abnahme des Glykogens beträgt bei einem mittleren Glykogengehalt der Leber von 8% 1,36 g oder 15,5% des

Anfangsgehaltes, bei einer Versuchsdauer von $3^1/_2$ Stunden und einer Temperatur von 22 bis 24°. Die einzelnen Versuche sind in der Tabelle mitgeteilt.

Datum	Tiere ohne Pankreas				Tiere mit Pankreas			
	Glykogen in 100 g Leber		Abnahme		Glykogen in 100 g Leber		Abnahme	
1913	ante	post	g	%	ante	post	g	%
7. VIII.	8,27	6,61	1,66	20,7	13,44	12,84	0,60	4,5
19.	7,36	6,35	1,01	13,7	13,20	12,54	0,66	5,0
21.	8,69	7,28	1,41	16,2	11,82	11,46	0,36	3,0
Mittelwert	8,11	6,75	1,36	15,5	12,82	12,28	0,54	4,2

Die Methode ist genau dieselbe wie die in dieser Zeitschr. **52**, 471, sowie in der Zeitschr. f. Biol. **60**, 381 angegebene.

Die vorstehenden Versuche bringen zum ersten Male eine experimentelle Bestätigung jener Theorie des Pankreasdiabetes, die am nachdrücklichsten durch v. Noorden ausgesprochen ist.

Danach handelt es sich beim Pankreasdiabetes um eine vermehrte Hydrolyse des Glykogens, für die bisher allerdings eine physikalisch-chemische Vorstellung fehlte. Dieses fehlende Glied habe ich in dem Umstande gefunden, daß bei reichlichem Glykogen- und Diastasegehalt trotzdem eine Wirkung der Diastase nicht vorhanden sein kann, weil in der intakten Zelle zwischen beiden sich ein Diffusionshindernis befindet. Dieses Diffusionshindernis wird durch Exstirpation des Pankreas weggeräumt.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß das Glykogen in der Leberzelle von einer Wandung umgeben ist, die nach Ausschaltung des Pankreas sich verändert.

Die Versuche werden fortgesetzt.

Bemerkungen über Farbreaktionen des Triketohydrindenhydrats (Ninhydrin).

Von

W. Halle, E. Loewenstein und E. Přibram.

(Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institut in Wien.)

(Eingegangen am 25. Juli 1913.)

Bei Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des auf eiweißfreiem Glycerinnährboden gewonnenen Tuberkulins machte der eine von uns (L.) die Beobachtung, daß das Glycerin in hohen Konzentrationen mit Ninhydrin beim Kochen eine ähnliche Blaufärbung gab wie verdünnte Aminosäuren. In Gegenwart von Natronlauge oder Barytlauge wurde die Blaufärbung wesentlich verstärkt. Diese Beobachtung nahmen wir zum Ausgangspunkt einiger systematischer Untersuchungen über die Farbreaktionen des Ninhydrins, teils wegen ihrer praktischen Bedeutung, bei der Prüfung auf Aminosäuren [Ruhemann[1]), Abderhalden[2])], teils wegen der interessanten theoretischen Frage der Wirkungsweise des Glycerins und anderer Substanzen, die ebenso wie dieses, insbesondere in Gegenwart von Natronlauge mit Ninhydrin Blaufärbung geben. Im Verlaufe unserer Untersuchungen konnten wir dieses Verhalten feststellen für aliphatische primäre ein- und mehrwertige Alkohole, Aldehyde, sowie für Zucker mit freier Aldehyd- und Ketogruppe. Da insbesondere die Reaktion für Zucker sehr empfindlich ist, ergeben sich auch hier praktisch wichtige Konsequenzen.

Bei unseren Untersuchungen hatten wir also zunächst zwei Hauptfragen zu stellen:

---

[1]) Ruhemann, Journ. of the chem. Soc. Transact. **97**, 1438, 2025, 1910; **99**, 792, 1911; **101**, 780, 1912.

[2]) E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**, 249, 1912.

1. Welcher Vorgang bedingt das Auftreten der Blaufärbung bei der Reaktion der untersuchten Alkohole, Aldehyde, Ketone und Zucker mit Ninhydrin?

2. Welche Ähnlichkeiten und welche Differenzen lassen sich zwischen der durch die Alkohol-, Aldehyd- und Ketogruppe bedingten Blaufärbung des Ninhydrins und der durch Aminosäuren auffinden?

I. Versuche mit aliphatischen primären (ein- und mehrwertigen) Alkoholen, Aldehyden, Ketonen und Zuckern.

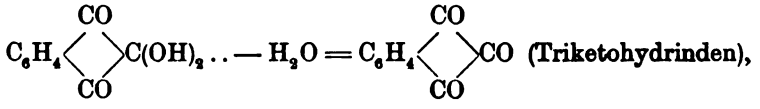
Glycerin gibt beim Kochen mit Ninhydrin in bestimmten Mengenverhältnissen Blaufärbung, in anderen Mengenverhältnissen gemischt Rotfärbung.

Das verwendete Glycerin war ein chem. reines Kahlbaumsches Präparat (2 mal destilliert), das Ninhydrin wurde in 1%iger wässeriger Lösung zugesetzt, die Mischung etwa 30 Sekunden über freier Flamme gekocht.

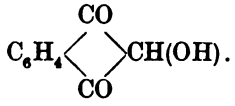
Glycerin ccm	Ninhydrin (1%) ccm	Farbton beim Kochen
2,0	0,2	tiefblau (bleibend)
2,0	0,5	heller, Stich ins Rötliche
2,0	0,7	blaß rotviolett
2,0	1,0	farblos
1,0	0,2	blauviolett
0,5	0,2	schwach blau
0,2	0,2	schwach blau

Diese Farbreaktionen gelangen ebenso wie mit Glycerin mit anderen primären (ein- und mehrwertigen) Alkoholen der aliphatischen Reihe, z. B. Amylalkohol (blau, rasche Entfärbung), Äthylenglykol (blauviolett), Erythrit (rot).

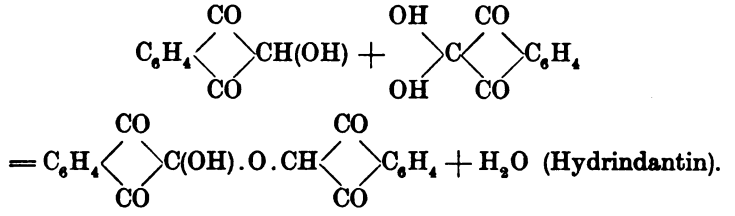
Ruhemann, der die Farbreaktionen des Triketohydrindenhydrats eingehend untersucht hat (l. c.), hat gezeigt, daß man durch Reduktion dieser Substanz über Triketohydrinden zum Hydrindantin gelangen kann, das unter bestimmten Bedingungen farbige (rote, blaue) Lösungen gibt. Es lag nahe, die Wirkung des Glycerins darauf zurückzuführen, daß es dem Hydrat zunächst ein Molekül Wasser entzieht,



dann die mittelständige Ketogruppe des Triketohydrindens zum sekundären Alkohol reduziert, wobei das Glycerin selbst zum Aldehyd oxydiert wird:



Dieser sekundäre Alkohol reagiert nun mit einem zweiten Molekül des Hydrats unter Wasseraustritt, wobei das erwähnte Hydrindantin entsteht:



Eine Stütze für diese Erklärung konnte leicht gefunden werden durch die Verwendung von Aldehyden [Glycerinaldehyd[1]), Formaldehyd] und Ketonen (Aceton), die ebenfalls beim Kochen mit Ninhydrin in bestimmten Mengenverhältnissen Blaufärbung hervorrufen. Bei Anwendung von Aldehyden entfärbt sich die Lösung rasch. Auch die freie Aldehyd- und Ketogruppe der Zucker (Mono- und Polysaccharide) ruft Farbreaktionen hervor:

Zucker (in Substanz)	Ninhydrin 1%ig ccm	Farbe nach 1 Minute langem Kochen
Traubenzucker . . .	0,4	blau
Lävulose	0,4	rötlichviolett
Galaktose	0,4	rosa (schwache Reaktion)
Maltose	0,4	blauviolett (starke Reaktion)
Milchzucker	0,4	rötlichviolett (schwache R.).

Rohrzucker, dem die freie Aldehyd- und Ketogruppe fehlt, der deshalb auch Kupfersulfat nicht reduziert, gibt die Reaktion nicht, die Lösung bleibt selbst bei langem Kochen farblos.

Die bisher angeführten Reaktionen gelingen bei neutraler Reaktion nur in hohen Konzentrationen (Glycerin muß unverdünnt, die Zucker in Substanz verwendet werden). Zusatz von Wasser verhindert die Farbbildung in allen Fällen, ebenso ent-

[1]) Darstellung nach E. Fischer, B. B. **20**, 3386, 1887.

färben sich alle Lösungen momentan bei starker Verdünnung mit Wasser. Die Reaktionen gelingen nur beim Kochen, nicht in der Kälte. Dagegen läßt sich die Empfindlichkeit der Reaktion außerordentlich steigern, wenn man die Lösung nach dem Kochen alkalisch macht, und zwar tritt bei Gegenwart von Natronlauge, Calciumhydrat, Barythydrat intensive Blaufärbung, bei Zusatz von Ammoniak Rotfärbung, durch Natriumcarbonat Violettrotfärbung auf. Die Empfindlichkeit der Reaktion mit Zucker steigt hierbei derart, daß selbst bei einer 100000fachen Verdünnung die auftretende Blaufärbung noch deutlich ist[1]).

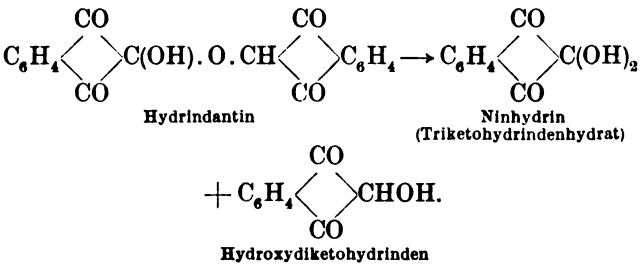
Glycerin ccm	Ninhydrin (1%) ccm	Farbton beim Kochen (30 Sek.)	Farbton bei nachträglichem Zusatz von NaOH (5%)
2,0	0,2	blau	tiefblau
2,0	0,5	rötlichblau	„
2,0	0,7	blaß rotviolett	„
2,0	1,0	farblos	„
1,0	0,2	blauviolett	„
0,5	0,2	schwach blau	„
0,2	0,2	„ „	„

Traubenzucker Aq. verdünnt	Ninhydrin ccm	Farbton beim Kochen (30 Sek.)	Farbton bei nachträglichem Zusatz von NaOH (5%)
1 : 10	0,2	gelb	tiefblau
1 : 100	0,2	„	„
1 : 1000	0,2	„	„
1 : 10 000	0,4	gelblich	„
1 : 100 000	0,4	„	blau
Aq. dest. (Kontrolle)	0,4	„	fast farblos

Wie erwähnt, geben Ammoniak, Natriumcarbonat keine Blau-, sondern Rot- und Violettfärbung. Auch dieses Verhalten der Lösungen spricht für die Bildung von Hydrindantin als Reaktionsprodukt, da Ruhemann für diese Substanz genau das gleiche Verhalten (Blaufärbung in NaOH, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, Rotfärbung in Ammoniak, Soda) festgestellt hat. Die Erklärung

[1]) Ninhydrin gibt beim Kochen und nachträglichem Zusatz von Natronlauge ebenfalls eine Blaufärbung, die offenbar durch die Wirkung der im destillierten Wasser vorhandenen reduzierenden Substanzen bewirkt wird. Durch quantitative vergleichende Untersuchungen haben wir uns davon überzeugt, daß bei Einhaltung der im Text angeführten Mengenverhältnisse diese Blaufärbung nur sehr schwach eintritt und jedenfalls zu Verwechslungen keinen Anlaß geben kann.

Ruhemanns, der die Entstehung zweier differenter Salze, eines roten und eines blauen annimmt, scheint jedoch nach unseren Versuchen nicht aufrechterhalten werden zu können. Ruhemann nimmt nämlich an, daß nur Na_2CO_3 und NH_3 mit Hydrindantin reagieren, während durch NaOH, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$ eine Hydrolyse des Hydrindantins zustande kommt, so daß dieses in das Ausgangsprodukt, das Hydrat, und eine zweite Substanz, das Hydroxydiketohydrinden zerlegt wird. Dieses letztere soll erst mit NaOH das tiefblaue Produkt geben:



Gegen diese Erklärung sprechen vor allem einige Versuche mit reinem Hydrindantin, das wir nach Ruhemann durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in die wässerige Lösung von Ninhydrin, Entfernung des Schwefels durch Ausschütteln des getrockneten Niederschlages mit Schwefelkohlenstoff, Reinigung durch Umkrystallisieren aus Aceton darstellten. Dieses Präparat gab genau alle von Ruhemann beschriebenen Reaktionen: Rotfärbung in Ammoniak, Rotfärbung in verdünnter Soda, Blaufärbung mit Natronlauge, Calcium- und Bariumhydrat. Wählt man aber eine stärkere Konzentration von Hydrindantin und eine stärkere Sodalösung (20%), so geht der rote Farbton immer mehr über rotviolett zu blauviolett. Befeuchtet man endlich das Präparat direkt mit 20%iger Sodalösung, so färbt es sich tiefblau. Schon diese Tatsache machte eine Verschiedenheit der Salze des Hydrindantins mit Soda und Natronlauge unwahrscheinlich. Ruhemann stützt seine Annahme weiter auf die Tatsache, daß aus der mit Natriumcarbonat hergestellten roten Lösung nach Zusatz von verdünnter Salzsäure das Hydrindantin unverändert ausgefällt wird, so daß man nach Zusatz von Soda die rote Lösung wiedergewinnen kann, während die blaue Lösung in Natronlauge sich nach Entfärbung mit Salzsäure nicht mehr regenerieren

lassen soll. Wir konnten nun zeigen, daß auch die rote Lösung in Soda sich nicht mehr regenerieren läßt, wenn man die Salzsäure längere Zeit auf die entfärbte Lösung einwirken läßt (Hydrolyse durch Salzsäure?), und daß die blaue natronalkalische Lösung nach Entfärbung mit verdünnter Essigsäure wieder hergestellt werden kann. Die Hydrolyse war also in Ruhemanns Versuchen nicht durch die Natronlauge, sondern durch die Salzsäure bewirkt worden, die zur Neutralisation zugesetzt worden war.

Wir müssen also nach einer anderen Erklärung für die Verschiedenheit der Färbung in soda- und natronalkalischer Lösung suchen, und finden sie wohl in der kolloiden Natur des gebildeten Farbstoffes, der je nach der Konzentration der freien Hydroxylionen das eine Mal blau, das andere Mal rot erscheint. Wir erinnern dabei an ähnliche Farbumschläge der Indicatoren und anderer kolloider Lösungen [Zsigmondy[1])].

Für diese Anschauung spricht schon die obenerwähnte Erscheinung, daß die Lösung des Hydrindantin in Ammoniak tiefrot, in verdünntem Natriumcarbonat rot, in stärkerer Lösung rot- bis blauviolett ist, die Substanz selbst sich tiefblau färbt, daß alle Alkalien (mit freien Hydroxylionen) tiefblaue Färbung geben, daß also die Farben von rot bis blau je nach der Zahl der freien Hydroxylionen erhalten werden können. Es gelang uns aber nicht nur mit Soda, sondern auch mit Ammoniak den blauen Farbton des Hydrindantins zu erzielen. Dieses löst sich in destilliertem Wasser mit roter Farbe (schwerlöslich), viel besser in Glycerin, wobei eine sattrote Lösung entsteht. Setzt man nun zur wässerigen Lösung des Hydrindantin Ammoniak, so erhält man einen tiefroten Farbton; setzt man zur Lösung in Glycerin Ammoniak zu, so erhält man eine tiefblaue Färbung. Nimmt man noch schwächere Basen als Ammoniak, so kann man auch im Glycerin den roten Farbton erzielen. So gibt beispielsweise Amylamin mit Hydrindantin in Glycerin gelöst den tiefroten, das schwächer basische Diäthylamin einen hellerroten Farbton. Wir wollen hier nicht näher auf den Zusammenhang zwischen der Farbe kolloider Lösungen und der Größe der suspendierten Teilchen eingehen,

[1]) Zsigmondy, Kolloidchemie 1912, S. 99.

wollen aber doch bemerken, daß dieser Zusammenhang zwischen Teilchengröße und Farbe der roten und blauen Lösungen anorganischer Kolloide (kolloides Gold) eine große Rolle bei der Erklärung der Farbtöne spielt[1]). Wir werden auf diese Theorien in einer späteren Arbeit ausführlicher zurückkommen. Schon hier sei aber erwähnt, daß wir im Hydrindantin einen Farbstoff haben, der eine außerordentliche Empfindlichkeit nicht nur gegen Hydroxylionenkonzentrationen, sondern, wie noch gezeigt werden soll, auch gegen Elektrolyte aufweist.

II. Die Reaktion des Ninhydrins mit Aminosäuren.

Aminosäuren geben beim Kochen mit Triketohydrindenhydrat eine Blaufärbung (Ruhemann) deren Farbton bei Einhaltung bestimmter Bedingungen (Mengenverhältnisse, Verdünnung, Reaktion) genau dem beim Kochen von Glycerin mit Ninhydrin und nachträglichem Zusatz von Natronlauge gleicht. Jedoch ändert weder Zusatz von Ammoniak, noch Zusatz von Natronlauge den blauen Farbton der Aminosäurereaktion. Zusatz von Ammoniak, Soda oder wenig Natronlauge vor dem Kochen der Aminosäure mit Ninhydrin läßt nur einen blauroten, keinen blauen Farbton entstehen. Stärkere Hydroxylionen-Konzentrationen (NaOH) verhindern die Reaktion.

1 ccm Alanin (1%) + 0,2 ccm Ninh. (1%), gekocht, tiefblau, nach Zusatz von NaOH unverändert.

1 ccm Alanin (1%) + 0,2 ccm Ninh. (1%) + 2 Tropfen NaOH (10%), gekocht, blaurot.

1 ccm Alanin (1%) + 0,2 ccm Ninh. (1%) + 0,5 ccm NaOH, Gelbfärbung, beim Kochen verschwindet die gelbe Farbe, farblos.

[1]) Eine auffallende Tatsache findet durch die hier gegebene Erklärung ihre Deutung: Glycerin mit Ninhydrin gekocht gibt Blaufärbung, während Hydrindantin, das Reaktionsprodukt, sich, wie erwähnt, in Glycerin mit roter Farbe löst. Nimmt man nur Differenzen in der Teilchengröße oder Form des gebildeten Produktes an, so ist die Erscheinung leicht zu verstehen; übrigens gelingt es bei Einhaltung bestimmter Mengenverhältnisse durch mäßiges Erwärmen (ca. 60°) der Lösung des Hydrindantin in Glycerin einen blauroten Ton zu erhalten; wir erhielten sogar einmal ausgesprochene Blaufärbung. Bemerkenswert erscheint auch, daß die blaue, beim Kochen von Ninhydrin mit Glycerin erhaltene Lösung nach Zusatz von Ammoniak rot wird und der rote Farbton nun auch nach Zusatz von NaOH bestehen bleibt.

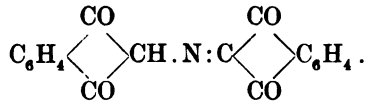
1 ccm Glycerin + 0,2 ccm Ninh. (1 %) + 0,5 ccm NaOH, gelb, beim Kochen intensive Blaufärbung.

Auch noch andere wichtige Unterschiede ließen sich feststellen, die gegen die Identität der Reaktionen sprechen. So gelingt die Aminosäurereaktion auch in der Kälte, sogar unter völligem Ausschluß von Sauerstoff, während die Reaktionen mit Glycerin, Zuckern usw. nur bei freiem Sauerstoffzutritt gelingen, im Vakuum aber ausbleiben:

Drei Uhrschälchen wurden im Exsiccator über Schwefelsäure (zur Vermeidung der Ammoniakdämpfe des Laboratoriums) mit mit folgenden Mischungen beschickt: 1) 2 ccm A lanin (1 %) 0,2 ccm Ninhydrin (1 %), nach einer Minute tiefblau. 2) 2 ccm Glycerin, 0,2 ccm Ninhydrin (1 %), bleibt auch bei stundenlanger Beobachtung farblos. 3) 2 ccm Aq., 0,2 ccm Ninhydrin (Kontrolle), bleibt farblos. Um zu sehen, ob der Sauerstoff zum Eintritt der Reaktion nötig sei, wurde der Versuch im Vakuum wiederholt: In einem Fraktionierkölbchen wurde unter Lichtausschluß (schwarze Verkleidung) ein Vakuum von 3 mm hergestellt und durch einen kleinen Scheidetrichter folgende Lösungen eingefüllt, die mit ausgekochtem Wasser hergestellt worden waren: 1) 2 ccm 1 %ige Alaninlösung und 0,4 ccm 1 %ige Ninhydrinlösung. Nach einer $^1/_4$ Stunde trat in der Kälte Blaufärbung ein. 2) 2 ccm Glycerin, 0,4 ccm 1 %ige Ninhydrinlösung gab weder in der Kälte noch auch beim Kochen im Vakuum eine Farbreaktion. Auf Zusatz von 3 Tropfen 10 %ige NaOH (Zufließenlassen im Vakuum) färbte sich die Lösung zunächst gelb und wurde nach $^1/_2$ Stunde tiefblau. Diese Blaufärbungen im Vakuum gingen nicht etwa von der Oberfläche der Flüssigkeiten aus, sondern traten in der ganzen Flüssigkeit gleichzeitig auf.

Aus diesem Verhalten ergibt sich, daß wir es hier mit der Bildung zweier differenter Farbstoffe zu tun haben. Der eine bildet sich ohne Sauerstoffzutritt in der Kälte (Aminosäurefarbstoff), der andere (Glycerinfarbstoff) nur unter Sauerstoffzutritt; die Wirkung der NaOH im zweiten Falle dürfte wohl darauf beruhen, daß sie frei verfügbaren Sauerstoff zuführt, gleichzeitig freie Hydroxylionen, die, wie oben erwähnt die Blaufärbung intensiv verstärken. Auch Ruhemann nimmt die Bildung zweier differenter Farbstoffe an. Er konnte zeigen,

daß beim Erwärmen von Triketohydrindenhydrat mit Aminosäuren diese unter Kohlensäure- und Ammoniakaustritt zum Aldehyd oxydiert werden (Alanin unter CO_2-Entwicklung zu Acetaldehyd), und daß hierbei das dem Murexid [Strecker[1])] entsprechende Diketohydrindylidendiketohydrindamin entsteht:



Dieses konnte er auch durch Einwirkung von Ammoniumcarbonat und Ammoniumacetat auf Hydrindantin erhalten. Unverständlich bleibt nach dieser Erklärung Ruhemanns, warum die Reaktion zwischen Aminosäuren und Ninhydrin schon in der Kälte, bei sicherem Ausschluß von Sauerstoff und Ammoniak vor sich geht. Hierbei ist wohl die Abspaltung von Kohlensäure und Ammoniak aus der betreffenden Aminosäure, ebenso die weitere Oxydation nicht ohne weiteres verständlich. Genau so wie bei dieser Reaktion verhält sich die Farbstoffbildung auch bei der Reaktion zwischen Alloxan und Alanin, bei der ebenfalls in der Kälte die Farbreaktion eintritt, die Kohlensäureabspaltung und Aldehydbildung aber erst in der Wärme[2]). Auch ein anderer Versuch spricht dafür, daß die Reaktion außerordentlich leicht vor sich geht: Mischt man Hydrindantin mit Alanin im Uhrschälchen im Exsiccator über Schwefelsäure, so erhält man nach einiger Zeit ebenfalls ohne weiteres in der Kälte ein blaues Reaktionsprodukt.

Wir haben oben gezeigt, daß ein Zusatz von Natronlauge vor dem Kochen die Reaktion der Aminosäure mit Ninhydrin stört. Mit Rücksicht auf die praktische Bedeutung der Frage haben wir in dieser Hinsicht auch einzelne Säuren geprüft. Es stellte sich hierbei heraus, daß nicht nur starke anorganische Säuren, sondern auch die relativ schwachen organischen (Essigsäure, Oxalsäure) die Reaktion vollständig verhindern. Es stellte sich ferner heraus, daß schwache organische Säuren (Essigsäure, Oxalsäure) den gebildeten blauen Farbstoff nach einem Farben-

[1]) Strecker, Liebigs Annal. d. Chem. u. Pharm. 47, 363, 1862: „Versetzt man eine Alloxanlösung mit einer Lösung von Alanin, so färbt sie sich purpurrot; bei gelindem Erwärmen entwickeln sich Kohlensäure und Aldehyd und beim Erkalten scheidet sich Murexid aus."

[2]) Strecker, l. c. S. 364.

umschlag über Rot rasch entfärben, also ähnlich wie starke anorganische Säuren in hoher Verdünnung wirken. Höhere Fettsäuren zeigen eine interessante Differenz, je nachdem ob sie gesättigt oder ungesättigt sind. Die gesättigten, Palmitin-, Stearinsäure, sind auch beim Kochen vollkommen indifferent, die ungesättigten, z. B. Ölsäure, entfärben beim Kochen die blaue Lösung.

III. Wirkung des Zusatzes von Elektrolyten auf die Ninhydrinfarbstoffe.

Die kolloide Natur der mit Aminosäuren und mit Glycerin aus Ninhydrin gebildeten Farbstoffe stand nach den oben angeführten Befunden außer Zweifel. Die große Empfindlichkeit der vorliegenden Farbstoffe gegen relativ geringe Änderungen der Alkalescenz des Mediums machte es wahrscheinlich, daß auch der Zusatz von Elektrolyten Farbumschläge und Flockungserscheinungen hervorrufen würde. Dies war tatsächlich der Fall, und es zeigte sich dabei, daß die Empfindlichkeit dieser Farbstoffe gegenüber Kationen nicht nur eine außerordentlich große ist, sondern daß jedes einzelne Kation eine ganz charakteristische Wirkung entfaltet, unabhängig von dem Anion, an das es im Salze gebunden ist, und das nur insofern eine Rolle spielt, als es durch Bestimmung der Zahl der Kationen die Intensität der Wirkung beeinflußt. So weit uns die Literatur bekannt ist, wurden so feine Differenzen in der Reaktionsfähigkeit eines Kolloids bisher niemals beobachtet. Wir geben hier die Versuchstabellen und behalten uns vor, diese und andere Farbstoffe in ähnlicher Weise zu untersuchen, sowie eine ausführliche Mitteilung über die Wirkung verschiedener Salze später folgen zu lassen.

Überblicken wir folgende Tabelle, so fällt es auf, daß alle Natriumsalze die Lösung unter Ausflockung erst rosa färben, dann ganz entfärben, die Kaliumsalze viel langsamer und meist schwächer ausflocken, dabei den blauen Farbton der Flüssigkeit wenig verändern. Ammonium- und Magnesiumsalze lassen die Farblösung unverändert, Bariumchlorid färbt sie violett, ohne in der angewendeten Konzentration auszuflocken. Calcium, Cadmium-, und als nicht dissoziierendes dreiwertiges Salz Cerchlorid, bewirken Rotfärbung ohne auszuflocken. Es kommt

also jedem Salz eine ganz charakteristische Wirkung zu, die bedingt sein kann durch chemische Vorgänge, jedenfalls aber mit intensiven physikalischen Veränderungen Hand in Hand geht, deren genaueres Studium wir einer späteren Mitteilung vorbehalten.

Wirkung der Elektrolyte auf die Ninhydrinfarbstoffe.

Salzlösung, 1 ccm (1 Mol im Liter)	Alaninfarbstoff, 1 ccm Ninh. (1%) mit 30 ccm Alanin gekocht (30 Sek.). Beobachtungsdauer: 5 Minuten	1 Stunde	18 Stunden
Natriumchlorid	Flüssigkeit rosa, rote Flocken	Flüssigk. fast farblos, roter Niederschl.	Flüssigk. fast entf., roter Niederschl.
Natriumbromid	Flüssigk. rotviolett, beg. Flockung	Flüssigkeit violett, rötliche Flocken	Flüssigkeit fast entfärbt
Natriumsulfat	Flüssigkeit rosa, rote Flocken	Flüssigk. entfärbt, roter Niederschlag	Flüssigkeit entfärbt, roter Niederschlag
Kaliumchlorid	Flüssigkeit blau, spärlich Flocken	Flüssigk. hellblau, spärl. Flocken	Flüssigkeit blau, brauner Niederschl.
Kaliumbromid	blau (unverändert)	hellblau, braune Flöckchen	Flüssigkeit blau, brauner Niederschl.
Kaliumsulfat	blau (unverändert)	Flüssigkeit blau, spärl. Flöckchen	Flüssigkeit blau, brauner Niederschl.
Ammoniumchlorid	blau (unverändert)	blau (unverändert)	blaßblau, kein Niederschlag
Ammoniumsulfat	blau (unverändert)	blau (unverändert)	blau, spärl. Bodens.
Ammoniumacetat	blau (unverändert)	blau (unverändert)	blau (unverändert)
Calciumchlorid	hochrot, keine Flocken	rot, spärliche Flocken	rot, spärl. brauner Niederschlag
Magnesiumchlorid	blau (unverändert)	blau (unverändert)	blau (unverändert)
Magnesiumsulfat	blau (unverändert)	blau (unverändert)	blau (unverändert)
Bariumchlorid	blauviolett, keine Flocken	blauviolett	blauviolett, kein Niederschlag
Cadmiumchlorid	tiefrot, keine Flock.	tiefrot	tiefrot, kein Niederschlag
Cerchlorid	hochrot, keine Flock.	hochrot	hochrot, kein Niederschlag
Kontr.: Aq. dest.	blau	blau	blau

In einer zweiten Tabelle haben wir Versuche gleicher Art mit dem Glycerinfarbstoff wiedergegeben. Wir finden, abgesehen von dem offenbar durch das viscosere Medium bedingten Ausbleiben jeder Niederschlagbildung, einige charakteristische Abweichungen bei einzelnen Salzen.

Salzlösung, 1 ccm (1 Mol im Liter)	Glycerinfarbstoff (2 ccm Ninhydr. 1%), mit 20 ccm Glycerin gekocht		
	15 Minuten	1 Stunde	18 Stunden
Natriumchlorid	rosa	blaßviolett	blaßviolett
Natriumbromid	blau	blau	blau
Natriumsulfat	rosa	violett (blaß)	violett
Kaliumchlorid	rötlichviolett	rötlichviolett	rötlichviolett
Kaliumbromid	blau	blau	blau
Kaliumsulfat	blau	blau	blau
Ammoniumchlorid	blau	braun	braun
Ammoniumsulfat	blau	blau	blau
Ammoniumacetat	blau	hellblau	hellblau (stark entfärbt)
Calciumchlorid	tiefrot	rot	hellrot
Magnesiumchlorid	blau	blau	blau
Magnesiumsulfat	blau	blau	blau
Bariumchlorid	rotviolett	violett	violett
Cadmiumchlorid	rot	rot	rot
Cerchlorid	rot	rot	rot
Kontr.: Aq. dest.	blau	hellblau	hellblau

Hier trat nirgends ein Niederschlag auf.

Im ganzen stimmen die beiden Untersuchungsreihen überein, nur erscheinen die Differenzen wohl wegen der mangelnden Ausflockung hier nicht so deutlich wie bei dem viel empfindlicheren Alaninfarbstoff. Eine Ausnahme macht aber das Ammoniumchlorid, das den Aminosäurefarbstoff unverändert läßt, während es den Glycerinfarbstoff nach einiger Zeit braun färbt. Dies scheint in Übereinstimmung mit unseren früheren Anhaltspunkten und mit der Ansicht Ruhemanns wieder für eine Differenz in der Konstitution der beiden Farbstoffe zu sprechen. Vielleicht werden Untersuchungen mit anderen, ähnlich gebauten Farbstoffen die tieferen Gründe dieses Verhaltens aufklären.

Zusammenfassung.

1. Eine Reihe von Substanzen, die dadurch charakterisiert erscheinen, daß sie freie Alkohol-, Aldehydgruppen oder Ketogruppen aufweisen, geben mit Triketohydrindenhydrat (Ninhydrin) Farbreaktionen (Glycerin, Äthylenglykol, Erythrit, Glycerinaldehyd, Aceton usw., sowie alle Zucker mit freier Aldehyd- oder Ketogruppe). Die Reaktion beruht auf der reduzierenden Eigenschaft dieser Substanzen.

2. Die Gegenwart freier Hydroxylionen verstärkt die Reaktion außerordentlich, so daß z. B. Traubenzuckerlösung, in

100000facher Verdünnung mit Ninhydrin gekocht, bei nachträglichem Zusatz von Natronlauge eine tiefblaue Färbung gibt. Je nach der Zahl der freien Hydroxylionen, also je nach der Stärke der verwendeten Base (Ammoniak, Soda, Natronlauge, Calcium- oder Barythydrat) erhält man die verschiedensten Farbtöne von rot über rotviolett blauviolett zu tiefblau. Dabei spielt auch das Medium eine Rolle.

3. Das bereits von Ruhemann durch Reduktion des Triketohydrindenhydrats erhaltene Hydrindantin ist das bei obengenannten Reaktionen entstehende farbbildende Zwischenprodukt. Der entstandene Farbstoff ist ein außerordentlich empfindlicher Indicator für freie Hydroxylionen.

4. Die durch Kochen von Aminosäuren mit Ninhydrin entstehende Blaufärbung unterscheidet sich in einigen wesentlichen Punkten von der durch Reduktion entstehenden. Sie tritt auch in der Kälte ein, sogar im Vakuum, also bei sicherem Ausschluß von Sauerstoff. Sie wird durch nachträglichen Zusatz freier Hydroxylionen nicht verstärkt, Zusatz von Natronlauge vor dem Kochen verhindert sie. Auch Hydrindantin gibt mit Aminosäuren Blaufärbung; auch diese Reaktion geht in der Kälte vor sich. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß auch die Reaktion mit Ninhydrin und Aminosäuren über Hydrindantin geht, doch ist es noch nicht sicher, ob der weitere Verlauf der Reaktion sich in der von Ruhemann angegebenen Weise vollzieht (Bildung von Diketohydrindylidendiketohydrindamin).

5. Auch der aus Aminosäuren mit Ninhydrin gebildete Farbstoff ist ein kolloider, der insbesondere außerordentlich empfindlich gegen Elektrolyte ist. Dabei kommt fast ausschließlich die Wirkung der Kationen zur Geltung, und zwar in der Weise, daß jedem Kation eine ganz spezifische physikalisch-chemische Wirkung eigen ist. Ausführlichere Untersuchungen in dieser Richtung behalten wir uns vor.

Beitrag zur Bedeutung der Pentosen als Energiequelle im tierischen Organismus.

Von

P. Schirokich.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 30. Juli 1913.)

Unser exaktes Wissen über die Verwendbarkeit der Pentosen für die energetischen Prozesse im Tierkörper ist noch recht gering. Nur für die Methylpentose Rhamnose hat Cremer[1]) durch sorgfältige Respirationsversuche den Nachweis geführt, daß sie annähernd isodynam an Stelle von Fett im Tierkörper verbrannt wird, während eine Minderung des Eiweißzerfalls im hungernden Organismus, wie sie durch Hexosen bewirkt wird, nicht sicher nachgewiesen werden konnte. Eine Minderwertigkeit der Pentosen tritt auch darin hervor, daß sie zu einer Glykogenbildung im Tierkörper nicht führen. Besonders präzis hat das Frentzel[2]) für die Xylose durch eine im hiesigen Laboratorium ausgeführte Untersuchung bewiesen. Angesichts der nicht so scharf negativ ausgefallenen Ergebnisse von Salkowski, Cremer u. a. an Arabinose und Rhamnose bleibt eine Prüfung der Wirksamkeit dieser Kohlenhydrate auf die Glykogenbildung wünschenswert. Zum Teil mit der Unfähigkeit sie zu speichern, zum Teil auch wohl mit dem Umstande, daß sie nicht für alle energetischen Bedürfnisse des Körpers das Fett vertreten können, hängt es wohl zusammen, daß immer ein mehr oder weniger großer Bruchteil der resorbierten Pentosen im Harn ausgeschieden wird, und zwar wesentlich mehr beim Fleischfresser als beim Omnivoren und Herbivoren (vgl. die Zusammenstellung von Magnus-Levy[3]).

[1]) Max Cremer, Über die Verwertung der Rhamnose im tierischen Organismus. Zeitschr. f. Biol. 42, 428.

[2]) J. Frentzel, Glykogenbildung nach Fütterung mit Holzzucker. Arch. f. d. ges. Physiol. 56, 273, 1894.

[3]) Magnus-Levy, Stoffwechsel der Kohlenhydrate, Oppenheimers Handbuch der Biochemie IV, 1, S. 399.

Ich habe es auf Rat von Prof. Zuntz übernommen, die Nährwirkung einer Pentose, der l-Arabinose durch Stoffwechsel- und Respirationsversuche zu klären. In der Anordnung der Versuche folgte ich den von Prof. Zuntz aufgestellten Direktiven, bei der Darstellung der in größeren Mengen (bis 1000 g) benötigten Arabinose aus Kirschgummi unterstützte mich Herr Prof. Neuberg.

Die Darstellung der l-Arabinose geschah nach Kiliani[1]):

Kirschgummi guter Qualität wurde mit 8 Teilen 4%iger H_2SO_4 durch 12stündiges Kochen hydrolysiert. Die in einem großen Kupferkessel befindliche Flüssigkeit wurde noch warm mit der berechneten Menge Baryt genau neutralisiert. Das gut ausgewaschene Filtrat vom $BaSO_4$ wurde im Vacuumabdampfapparat eingeengt, der resultierende Sirup mit 92%igem Alkohol ausgekocht und der Rückstand mit etwas Wasser durchfeuchtet und so oft mit Alkohol extrahiert, als noch reichlich reduzierende Substanz in Lösung ging. Die vereinigten Alkoholextrakte erstarrten nach dem Einmengen und Stehen bei Winterkälte zu einem dicken Brei von l-Arabinose, die abgesaugt, mit verdünntem Alkohol ausgewaschen und umkrystallisiert wurde.

Die Versuche wurden an einer gut dressierten tracheotomierten Hündin ausgeführt, die außerdem leicht unter genügender Wahrung der Asepsis mit Hilfe des Vaginalspeculums katheterisiert werden konnte. In den einzelnen Abschnitten des Versuches wurden immer gleiche Mengen Arabinose und Traubenzucker für sich oder als Zulage zu dem stets gleichen Grundfutter verabreicht, um so die einzelnen in Betracht kommenden Wirkungen der Pentose mit denen des Traubenzuckers vergleichen zu können. Das Grundfutter bestand während der ganzen Versuchsreihe von Mitte Januar bis Ende Juni 1912 aus 120 g Hackfleisch, dem 20 bis 45 g Schweineschmalz zugefügt wurden. Die Fettmenge wurde variiert, um das Tier bei den wechselnden Mengen zugeführter Kohlenhydrate und zeitweise zu Versuchszwecken eingeschobenen Hungertagen bei annähernd gleichem Gewichte zu erhalten. Wie weit das gelungen ist, erhellt aus den Gewichtsdaten in Tabelle I bis IV; erst von Ende Februar ab nahm das Gewicht etwas mehr zu.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **19**, 3029, 1886.

Tabelle I.

Gaswechsel bei Traubenzucker 3 bis 7 Stunden nach Fütterung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter g	Stickstoff im Harn pro Tag g	Körpergewicht kg	Zeit des Versuches	Welche Stunde nach Fütterung	Frequenz der Atmung pro Minute	Atmung auf 0° × 760 mm reduziert pro Minute Liter	T. B. Stand	Zimmertemperatur °C	In der ausgeatmeten Luft[1]) CO_2 %	CO_2 %	N %	N %	O_2-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. ccm	O_2-Verbr. pro Minute ccm	R. Q.	Bemerkungen
1. II.	120 g Fleisch + 33 g Schw.-Schmalz mit 100 ccm Wasser um 8°° morg.	0	3,70	6,44	10^{37-54}	3.	—	1,178	112,21	20,5	3,22	3,25	80,41	80,44	4,947	37,7	58,3	0,65	
					11^{23-38}	4.	—	1,291	112,39	20,9	3,37	3,36	80,06	80,10	4,642	43,1	59,9	0,72	
					12^{20-35}	5.	—	1,316	112,45	21,0	3,11	3,09	79,96	79,95	4,218	40,4	55,5	0,73	
					1^{16-31}	6.	—	1,353	112,67	21,0	2,97	2,93	80,03	80,05	4,176	39,5	56,5	0,70	
		Mittel pro 3 bis 6 Stunden nach Fütterung						1,285								40,2	57,5	0,70	
3. II.	Wie am 1. II.	0	3,90	6,46	10^{16-34}	3.	10,3	1,107	111,82	19,5	3,72	3,69	80,38	80,40	5,374	40,7	59,5	0,68	
					11^{10-25}	4.	15	1,320	111,90	20,0	3,29	3,25	80,09	80,11	4,572	42,7	60,3	0,71	
					12^{07-23}	5.	17	1,232	112,05	20,3	3,40	3,38	79,99	80,04	4,584	41,4	56,5	0,73	
					1^{02-19}	6.	16	1,177	112,13	20,7	3,37	3,35	80,06	80,07	4,617	39,2	54,3	0,72	
		Mittel pro 3 bis 6 Stunden nach Fütterung					14,6	1,209								41,0	57,7	0,71	
5. II.	Wie am 1. II.	7,5 g Tr.-Zucker mit Futter gegeben.	3,76	6,52	10^{24-43}	3.	11	1,085	112,17	20,5	3,47	3,49	80,34	80,37	5,104	37,4	55,4	0,68	
					11^{14-32}	4.	14	1,114	112,39	21,0	3,37	3,35	80,18	80,28	4,826	37,1	53,7	0,69	
					12^{12-30}	5.	17	1,158	112,65	21,0	3,32	3,33	80,06	80,05	4,570	38,2	52,9	0,72	
					1^{10-26}	6.	18	1,240	112,87	21,5	3,13	3,10	79,84	79,90	4,127	38,3	51,2	0,75	
						Mittel	15	1,149								37,7	53,3	0,71	
6. II.	Wie am 1. II.	15 g Tr.-Zucker mit Futter gegeben.	3,48	6,55	10^{20-38}	3.	16	1,129	112,14	19,8	3,52	3,50	80,00	80,04	4,712	39,3	53,2	0,74	
					11^{14-30}	4.	18	1,251	112,40	20,0	3,25	3,22	79,98	79,99	4,392	40,1	54,9	0,73	
					12^{10-29}	5.	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Unruhig.
					1^{05-22}	6.	20	1,170	112,80	20,7	3,05	3,02	79,94	79,99	4,165	35,1	48,7	0,72	
						Mittel	17	1,183								38,2	52,3	0,73	
7. II.	120 g Fleisch + 21 g Schw.-Schmalz mit 100 ccm Wasser um 8°° morg.	15 g Tr.-Zucker um 8°° morg. mit Futter und 15 g um 10^{25} morg. mit 80 ccm Wasser = 30 g Zucker	—	6,53	9^{52}—10^{10}	3.	16	1,144	114,36	23,7	3,26	3,25	80,03	80,08	4,519	36,9	51,7	0,71	
					11^{01-17}	4.	18	1,289	114,36	23,7	3,30	3,25	79,83	79,89	4,281	41,8	55,2	0,76	
					12^{01-18}	5.	24	1,781	114,37	23,8	3,11	3,14	79,33	79,32	3,446	55,1	61,4	0,90	} Unruhig.
					1^{25-29}	6.	Hecheln	5,142	114,65	23,8	1,03	0,92	79,19	79,17	1,114	48,6	57,3	0,85	} Hacheln.
					2^{55}—3^{09}	7.	17	1,369	114,12	23,3	2,82	2,90	80,04	80,00	4,062	38,8	55,6	0,70	
						Mittel										44,2	56,2	0,78	

8. II.	Wie am 1. II.	7,5 g Tr.-Zucker mit Futter gegeben.	3,28	6,55	10^{06-28}	3.	13,5	1,215	113,17	21,9	3,57	3,51	79,98	80,00	4,688	42,7	57,0	0,75
					11^{00-16}	4.	16,0	1,237	113,29	21,9	3,31	3,31	79,87	79,90	4,341	40,6	53,7	0,76
					12^{00-16}	5.	17,5	1,262	113,52	22,6	3,25	3,23	79,92	79,95	4,334	40,5	54,7	0,74
					1^{00-15}	6.	19,0	1,347	113,50	22,4	3,23	3,19	79,68	79,75	4,025	42,8	54,2	0,79
						Mittel	16,5	1,265								41,7	54,9	0,76

[1]) Von jedem Atemgas wurden 2 Proben analysiert; zur Kontrolle der Fehlergröße gebe ich beide Werte. — Bei der Berechnung des R. Q. und des gebildeten CO_2 ist 0,03 (CO_2-Gehalt in Inspirationsluft) abzuziehen. Der Harn war in diesen Versuchen stets frei von Zucker.

Tabelle II.

Gaswechsel bei Arabinose 3 bis 7 Stunden nach Fütterung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter g	Stickstoff im Harn pro Tag g	Zucker im Harn pro Tag g	Körpergewicht kg	Zeit des Versuches	Welche Stunde nach Fütterung	Frequenz der Atmung pro Minute	Atmung auf 0° × 760 mm reduziert pro Minute Liter	T. B. Stand	Zimmertemperatur °C	In der ausgeatmeten Luft[1]) CO_2 %	CO_2 %	N %	N %	O_2-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. ccm	O_2-Verbr. pro Minute ccm	R. Q.	Bemerkungen
10. II.	120 g Fleisch + 33 g Schw.-Schmalz mit 100 ccm Wasser um 8⁰⁰ morg.	7,5 g Arabinose (93,4 %) mit Futter gegeben.	3,55	3,36	6,47	10^{05-24}	3.	12	1,042	113,38	22,6	3,47	3,42	80,12	80,17	4,804	35,6	50,1	0,71	
						11^{00-21}	4.	10	0,967	113,37	22,8	3,59	3,57	80,23	80,30	5,090	34,3	49,2	0,70	
						12^{00-17}	5.	13	1,137	113,25	22,0	3,31	3,30	80,13	80,17	4,670	37,2	53,1	0,70	
						1^{00-18}	6.	15	1,103	113,16	22,0	3,36	3,34	80,20	80,25	4,808	36,6	53,0	0,69	
							Mittel	12,5	1,062								35,9	51,3	0,70	
12. II.	Wie am 10. II. (Wasser total = 200 ccm).	15 g Arabinose (93,4 %) mit 100 ccm Wasser um 9⁰⁰ morg.	—	6,37	6,64	10^{15-39}	3.	12,5	0,874	112,09	21,9	3,48	3,50	80,37	80,40	5,143	30,2	44,9	0,67	
						11^{07-29}	4.	13	0,972	112,13	22,0	3,44	3,50	80,09	80,04	4,728	33,4	45,9	0,73	
						12^{00-21}	5.	13	0,980	112,22	22,0	3,33	3,36	80,11	80,11	4,660	32,5	45,7	0,71	
						1^{00-19}	6.	17	1,129	112,31	22,0	3,19	3,20	79,95	79,95	4,308	35,7	48,7	0,73	
							Mittel	13,9	0,989								32,9	46,3	0,71	
13. II.	Wie am 10. II. (Wasser total = 240 ccm).	15 g Arabinose (93,4 %) mit Futter und 15 g Arabinose mit 140 ccm Wasser um 11⁴⁰ vormitt.	—	12,60	6,68	10^{24-46}	3.	11	0,976	111,74	22,0	3,48	3,51	80,04	80,04	4,721	33,8	46,1	0,73	Sehr unruhig, um 4⁴⁰ nachm. Durchfall.
						11^{25-44}	4.	13	1,100	111,77	22,1	3,17	3,19	80,13	80,18	4,551	34,7	50,1	0,69	
						12^{13-31}	5.	unregelm.	1,164	111,80	22,1	2,82	2,85	79,90	79,99	3,942	32,6	45,9	0,71	
						1^{02-19}	6.	20	1,203	111,83	22,2	3,04	3,05	79,79	79,92	4,037	36,3	48,6	0,75	
						4^{07-17}	9.	26	Hacheln	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
							Mittel										34,3	47,7	0,72	

[1]) Vgl. Fußnote zu Tabelle I.

Tabelle II (Fortsetzung).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter g	Stickstoff im Harn pro Tag g	Zucker im Harn pro Tag g	Körpergewicht kg	Zeit des Versuches	Welche Stunde nach Fütterung	Frequenz der Atmung pro Minute	Atmung auf 0° × 760 mm reduziert pro Minute Liter	T. B. Stand	Zimmertemperatur °C	In der ausgeatmeten Luft[1]) CO_2 %	CO_2 %	N %	N %	O_2-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min ccm	O_2-Verbr. pro Minute ccm	R. Q.	Bemerkungen
14. II.	120 g Fleisch + 33 g Schw.-Schmalz mit 100 ccm Wasser um 8^{00} morg.	0	—	0,15	6,55	10^{17}–^{35}	3.	11,5	1,206	111,52	22,0	3,67	3,74	79,97	80,03	4,881	44,3	58,9	0,75	
						11^{02}–^{21}	4.	12,0	1,133	111,69	22,0	3,40	3,41	80,27	80,29	4,936	38,2	55,9	0,6[illegible]	
						5^{08}–^{27}	10.	9,0	1,082	111,98	22,3	3,40	3,40	80,27	80,33	4,955	36,5	53,6	0,68	
						Mittel 3—4 Std.		**11,7**	**1,170**								**41,3**	**57,4**	**0,70**	
22. II.	Wie am 10. II., aber um 8^{30} morg.	0	3,69	0	6,65	10^{50}–11^{10}	3.	11,3	1,110	110,92	21,0	3,53	3,60	80,29	80,21	5,056	39,2	56,1	0,70	
						11^{44}–12^{00}	4.	10,7	1,289	111,00	21,2	3,35	3,33	80,12	80,10	4,655	42,7	60,0	0,71	
						12^{27}–^{54}	5.	11,0	1,271	111,05	21,3	3,17	3,19	80,03	80,04	4,401	40,0	55,9	0,72	
						1^{25}–^{41}	6.	14,7	1,403	111,14	21,5	2,86	2,87	80,06	79,99	4,076	39,8	57,2	0,70	
						Mittel		**11,9**	**1,268**								**40,4**	**57,3**	**0,71**	
23. II.	Wie am 10. II. um 8^{00} morg.	15 g Arabinose (93,4 %) mit Futter.	—	7,15	6,69	10^{05}–^{30}	3.	7	0,846	112,55	22,0	3,71	3,69	80,06	80,10	4,976	31,1	42,1	0,74	
						11^{02}–^{24}	4.	8	0,950	112,62	22,0	3,59	3,58	79,82	79,85	4,553	33,9	43,3	0,78	
						12^{00}–^{21}	5.	7	1,004	112,67	21,8	3,51	3,55	79,91	79,86	4,561	35,1	45,8	0,77	
						1^{00}–^{19}	6.	10	1,108	112,77	22,0	3,44	3,47	79,99	80,01	4,631	37,9	51,3	0,74	
						Mittel		**8**	**0,977**								**34,5**	**45,6**	**0,76**	
24. II.	Wie am 10. II., aber mit 150 ccm Wasser (Wasser total = 240 ccm).	15 g Arabinose (93,4 %) mit Futter und 15 g Arabinose um 11^{00} vormitt. mit 90 ccm Wasser = 30 g	—	14,31	6,72	10^{23}–^{48}	3.	7,5	0,861	113,34	21,7	3,71	3,74	80,07	80,06	4,982	31,8	42,9	0,74	
						11^{42}–12^{06}	4.	7,7	0,893	113,64	22,0	3,68	3,70	80,06	80,00	4,905	32,7	43,8	0,75	
						12^{32}–^{58}	5.	9	0,983	113,77	22,3	3,74	3,69	79,79	79,81	4,638	36,2	45,6	0,79	
						1^{24}–^{43}	6.	9	1,057	113,84	22,1	3,64	3,65	79,56	79,67	4,334	38,2	45,8	0,83	
						2^{14}–^{32}	7.	10	1,129	114,02	22,8	3,79	3,79	79,70	79,70	4,586	42,4	51,7	0,82	Durchfall nach d. Versuch um 5^{30}—6^{00} abends
						Mittel 3—6 Std.		**8,3**	**0,949**								**34,7**	**44,5**	**0,77**	

[1]) Vgl. Fußnote zu Tabelle I.

Das Fleisch wurde immer für mehrere Wochen beschafft, und aus dem gut gemischten Vorrat die Tagesportionen in Einmachegläser abgewogen und in diesen sterilisiert. Die kleinen Differenzen im Stickstoffgehalt des Futters sind in Tabelle V, Stab 4 angegeben.

Einen genaueren Überblick über den Verlauf des ganzen Versuchs und die Möglichkeit einer Kontrolle der Berechnungen gewähren Tabellen I bis IV für den Gaswechsel des Tieres in seiner Abhängigkeit von den verabreichten Kohlenhydraten, Tabelle V für die Stickstoffmengen in der Nahrung und im Harn; letztere sind zum Teil gesondert bestimmt für die an die Fütterung resp. die Darreichung der in Frage stehenden Kohlenhydrate sich anschließenden Stunden.

Zu Tabelle I bis IV ist zu bemerken, daß die Analyse der ausgeatmeten Luft, wie stets bei den Respirationsversuchen in diesem Laboratorium, doppelt ausgeführt wurde. Um eine Kontrolle der Zuverlässigkeit der Zahlen zu ermöglichen, gebe ich die beiden Werte für den CO_2-Gehalt der Exspirationsluft in Stab 12 und 13, resp. 13 und 14. Aus dem Mittel wird nach Abzug von 0,03 % für den Kohlensäuregehalt der Außenluft durch Multiplikation mit der auf 0° und 760 mm reduzierten pro Minute geatmeten Luftmenge (Stab 10) die CO_2-Ausscheidung pro Minute gefunden. Aus den entsprechenden in Stab 14 und 15, resp. 15 und 16 aufgeführten N-Werten wird das Sauerstoffdefizit (Stab 17) und aus diesem und Stab 9 resp. 10 der Sauerstoffverbrauch pro Minute (Stab 18 resp. 19) berechnet.

Das unmittelbar an der Gasuhr abgelesene Atemvolumen, das durch die Thermobarometerablesung (Stab 11) dividiert den Wert von Stab 10 liefert, ist nicht angeführt. In den Versuchen mit Zufuhr von Traubenzucker fand ich niemals Zucker im Harn, regelmäßig dagegen nach Verfütterung von Arabinose; die Menge wurde polarimetrisch bestimmt und betrug nahezu die Hälfte der verfütterten. Genaueres ergibt Tabelle VI. Es ist bemerkenswert, daß die Verluste im Harn annähernd die gleichen bleiben, wenn die Arabinose für sich und wenn sie mit dem Futter gemischt verfüttert wurde.

Tabelle III.

Gaswechsel in nüchternem Zustande und in den ersten 8 Stunden nach dem Füttern.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter g	Stickstoff im Harn pro Tag g	Zucker im Harn pro Tag g	Körpergewicht kg	Zeit des Versuches	Welche Stunde nach d. Fütterung	Frequenz der Atmung pro Minute	Atmung auf 0° × 760 mm reduziert pro Minute Liter	T. B. Stand	Zimmertemperatur °C	In ausgeatmeter Luft[1]) CO_2 %	CO_2 %	N %	N %	O_2-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. ccm	O_2-Verbr. pro Minute ccm	R. Q.	Bemerkungen
27. II.	120 g Fleisch + 33 g Schweineschmalz mit 100 ccm Wasser um 11^{00} vorm.	0	—	—	6,60	9^{15}–^{39}	nüchtern	8,5	0,920	112,33	21,2	3,35	3,34	80,22	80,22	4,778	30,5	44,0	0,69	
						10^{06}–^{30}	nüchtern	8,2	0,902	112,31	20,8	3,28	3,33	80,06	80,08	4,567	29,5	41,2	0,72	
		Mittel im nücht. Zustande						**8,3**	**0,911**			**3,31**	**3,33**	**80,14**	**80,15**		**30,0**	**42,6**	0,705	
						12^{00}–^{20}	2.	12,5	1,009	112,52	21,2	3,28	3,32	80,44	80,46	5,045	33,0	50,9	0,65	
						1^{00}–^{18}	3.	13,5	1,206	112,60	21,1	3,32	3,37	79,85	79,87	4,341	40,0	52,3	0,77	
						2^{00}–^{18}	4.	13,7	1,217	112,72	21,1	3,20	3,25	79,97	79,98	4,369	38,9	53,2	0,73	
						5^{09}–^{26}	7.	11,3	1,194	112,55	20,6	3,32	3,34	80,08	80,11	4,625	39,4	55,2	0,71	
						5^{58}–6^{15}	8.	12,5	1,199	112,77	21,4	3,30	3,34	79,96	80,00	4,471	39,4	53,6	0,74	
								12,8	**1,157**								**37,8**	**52,9**	**0,72**	
29. II.	Wie am 27. II., nur 200 ccm Wasser	0	4,15	—	6,65	9^{36}–10^{02}	nüchtern	7,2	0,850	111,40	19,7	3,33	3,37	80,15	80,14	4,715	28,2	40,1	0,70	
						10^{25}–^{49}	nüchtern	7,2	0,850	111,62	20,0	3,28	3,25	79,90	79,97	4,360	27,5	37,1	0,74	
		Mittel im nücht. Zustande						**7,2**	**0,850**			**3,30**	**3,31**	**80,02**	**80,06**		**27,9**	**38,6**	**0,72**	
						12^{03}–^{21}	2.	9,7	1,196	111,96	20,3	3,30	3,32	79,89	79,97	4,398	39,2	52,6	0,75	
						1^{00}–^{16}	3.	12,7	1,282	112,18	20,5	3,27	3,26	79,90	79,90	4,318	41,9	55,4	0,76	
						2^{00}–^{16}	4.	12,3	1,319	112,44	21,0	3,07	3,09	79,84	79,90	4,092	40,2	54,0	0,74	
						5^{05}–^{21}	7.	14,3	1,268	112,94	21,5	2,90	3,00	80,04	80,04	4,179	37,0	53,0	0,70	
								12,2	**1,266**								**39,6**	**53,8**	**0,74**	
1. III.	Wie am 27. II., Wasser total = 200 ccm	15 g Arabinose (93,4 %) mit Futter gegeben	3,79	6,96	6,60	9^{33}–^{59}	nüchtern	8,0	0,856	112,06	20,2	3,37	3,44	80,16	80,19	4,801	28,9	41,1	0,70	
						10^{22}–^{49}	nüchtern	7,2	0,823	112,15	20,4	3,39	3,37	80,13	80,07	4,682	27,6	38,6	0,71	
		Mittel im nücht. Zustande						**7,6**	**0,840**			**3,38**	**3,40**	**80,14**	**80,13**		**28,3**	**39,8**	**0,71**	

						12^{01-25}	2.	8,0	0,880	112,16	20,8	3,34	3,38	80,16	80,11	4,707	29,3	41,4	0,71
						12^{50}—1^{21}	3.	8,2	0,983	112,29	20,9	3,61	3,59	79,93	80,00	4,730	35,1	46,5	0,75
						2^{00-20}	4.	9,0	0,029	112,32	20,6	3,47	3,58	79,90	79,89	4,568	35,9	46,9	0,76
						4^{30-49}	6.	11,5	1,168	112,62	20,8	3,02	3,02	80,17	80,22	4,441	34,9	51,9	0,67
								9,2	**1,015**								**33,8**	**46,7**	**0,72**
6. III.	Wie am 1. III.	15 g Arabinose (93,4 %) mit Futter gegeben	3,92	7,09	6,78	9^{36-59}	nüchtern	9,7	0,913	113,93	21,0	3,33	3,33	80,19	80,21	4,758	30,2	43,4	0,70
						10^{22-46}	nüchtern	11,5	0,798	113,95	21,0	3,66	3,62	80,19	80,22	5,074	28,8	40,5	0,71
		Mittel im nücht. Zustande						**10,6**	**0,856**			**3,50**	**3,48**	**80,19**	**80,21**		**29,5**	**41,9**	**0,71**
						12^{00-23}	2.	9,0	0,900	114,06	21,2	3,52	3,53	80,00	80,08	4,753	31,5	42,8	0,73
						1^{00-22}	3.	12,8	0,945	114,17	21,5	3,56	3,57	80,02	80,02	4,769	33,4	45,1	0,74
						2^{00-20}	4.	13,0	1,050	114,23	21,9	3,61	3,59	79,78	79,85	4,542	37,5	47,7	0,79
						5^{02-18}	7.	14,5	1,321	113,99	21,3	3,04	3,06	79,99	80,02	4,245	39,9	56,1	0,71
								12,3	**1,054**								**35,6**	**47,9**	**0,74**
12. III.	Wie am 1. III.	15 g Traubenzucker mit Futter gegeben	4,30	0	6,88	9^{50}—10^{14}	nüchtern	8,2	0,859	111,24	20,0	3,30	3,31	80,46	80,38	5,012	28,1	43,0	0,65
						10^{32-52}	nüchtern	10,7	1,065	111,28	20,0	3,01	3,02	80,09	80,06	4,286	31,8	45,6	0,70
		Mittel im nücht. Zustande						**9,5**	**0,962**			**3,15**	**3,16**	**80,27**	**80,22**		**29,9**	**44,3**	**0,68**
						12^{00-16}	2.	12,3	1,333	111,25	19,9	3,33	3,31	79,80	79,77	4,224	43,9	56,3	0,78
						1^{00-16}	3.	13,7	1,307	111,42	20,0	3,27	3,27	79,82	79,83	4,225	42,4	55,2	0,77
						1^{56}—2^{11}	4.	16,3	1,401	111,52	20,0	3,28	3,27	79,75	79,73	4,116	45,5	57,7	0,79
								14,1	**1,347**								**43,9**	**56,4**	**0,78**
18. III.	Wie am 1. III.	15 g Traubenzucker mit Futter gegeben	3,75	0	6,90	9^{44}—10^{08}	nüchtern	7,2	0,855	114,61	21,0	3,62	3,62	—	80,43	5,340	30,7	45,7	0,67
						10^{26-46}	nüchtern	9,8	1,017	114,76	21,2	3,20	3,19	—	80,10	4,434	32,2	45,1	0,71
		Mittel im nücht. Zustande						**8,5**	**0,936**			**3,41**	**3,40**				**31,4**	**45,4**	**0,69**
						12^{00-15}	2.	15,7	1,385	115,00	21,5	3,18	3,16	—	79,96	4,296	43,5	59,5	0,73
						1^{06-21}	3.	15,7	1,352	115,20	21,9	3,16	—	—	79,80	4,083	42,3	55,2	0,77
						2^{05-21}	4.	15,0	1,258	115,26	21,7	3,33	3,32	79,95	79,94	4,435	41,5	55,8	0,74
								15,5	**1,332**								**42,4**	**56,8**	**0,75**

[1]) Bei der Berechnung des gebildeten CO_2 und des R. Q. ist 0,03 (CO_2-Gehalt in Inspirationsluft) abzuziehen.

Tabelle III (Fortsetzung.)

Gaswechsel in nüchternem Zustande und nach Aufnahme von Arabinose oder Traubenzucker allein.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter g	Stickstoff im Harn pro Tag g	Zucker im Harn pro Tag g	Körpergewicht kg	Zeit des Versuches	Welche Stunde nach d. Fütterung	Frequenz der Atmung pro Minute	Atmung auf 0° × 760 mm reduziert pro Minute Liter	T. B. Stand	Zimmertemperatur °C	In ausgeatmeter Luft[1]) CO_2 %	CO_2 %	N %	N %	O_2-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. ccm	O_2-Verbr. pro Minute ccm	R. Q.	Bemerkungen
20. III	Wie am 1. III., nur mit 100 ccm Wasser, und um 3⁰⁰ nachm., d. h. nach den Respir.-Versuchen (Wasser total = 340 ccm)	1. 11^{02} vorm. 5 g Arabinose mit 40 ccm Wasser; 2. 12^{30} nachm. 5 g Arabinose mit 100 ccm Wasser; 3. 1^{27} nachm. 5 g Arabinose mit 100 ccm Wasser (rein Arab. 14,01)	—	6,54	—	9^{47}—10^{10}	nüchtern	8,8	0,899	113,36	20,8	3,38	3,37	80,41	80,40	5,063	30,1	45,5	0,66	Durchfall nach 6⁰⁰ abends
						10^{37}—^{59}	nüchtern	10,6	0,937	113,44	20,8	3,35	3,36	80,17	80,13	4,720	31,1	44,2	0,70	
			Mittel im nücht. Zustande					**9,7**	**0,918**			**3,36**	**3,36**				**30,6**	**44,9**	**0,68**	
						11^{56}–12^{20}	.	9,8	0,840	113,56	20,9	3,38	3,36	80,19	80,20	4,790	28,0	40,2	0,70	
						1^{00}–^{23}	.	8,8	0,857	113,65	21,0	3,47	3,47	80,19	80,20	4,895	29,5	41,9	0,70	
						2^{00}–^{22}	.	9,4	0,909	113,77	21,3	3,38	3,38	80,14	80,16	4,745	30,4	43,1	0,71	
								9,3	**0,869**								**29,3**	**41,7**	**0,70**	
22. III.	Wie am 20. III. um 3⁰⁰ nachm. (Wasser total = 400 ccm). 21. III. Fütterung um 11⁰⁰ vorm.	1. 11^{00} vorm. 2. 12^{24} nachm. 2. 1^{28} „ je 5 g Traubenzucker mit 100 ccm Wasser	—	0	—	9^{33}–^{57}	nüchtern	8,0	0,820	113,50	20,2	3,42	3,41	80,35	80,35	5,038	27,8	41,4	0,67	
						10^{21}–^{45}	nüchtern	10,0	0,846	113,67	20,4	3,39	3,40	80,29	80,30	4,943	28,5	41,8	0,68	
			Mittel im nücht. Zustande					**9,0**	**0,833**			**3,40**	**3,40**	**80,32**	**80,32**		**28,2**	**41,6**	**0,68**	
						12^{00}–^{20}	.	11,8	1,017	113,73	21,0	3,17	3,17	79,65	79,63	3,896	32,0	39,6	0,81	
						1^{01}–^{19}	.	16,2	1,134	113,90	21,0	3,09	3,11	79,70	79,74	3,922	34,8	44,5	0,78	
						2^{00}–^{16}	.	16,4	1,263	114,16	21,8	2,87	2,88	79,62	79,56	3,532	35,9	44,6	0,80	
								14,8	**1,138**								**34,2**	**42,9**	**0,80**	

[1]) Bei der Berechnung des gebildeten CO_2 und des R. Q. ist 0,03 (CO_2-Gehalt in Inspirationsluft) abzuziehen.

Tabelle IV.

Gaswechsel bei Arabinose 9 bis 12 Stunden nach der Fütterung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter g	Körpergewicht kg	Zeit des Versuches	Welche Stunde nach d. Fütterung	Frequenz der Atmung pro Minute	Atmung auf 0° × 760 mm reduziert pro Minute Liter	T. B. Stand	Zimmertemperatur °C	In ausgeatmeter Luft CO_2 %	CO_2 %	N %	N %	O_2-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. ccm	O_2-Verbr. pro Minute ccm	R. Q.	Bemerkungen
2. V.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 200 ccm Wasser um 7⁰⁰ morgens	0	7,09	3⁰⁹–²⁷	9.	10,7	1,075	114,78	22,2	3,31	3,34	80,24	80,17	4,759	35,4	51,1	0,69	
				4⁰⁰–¹⁶	10.	12,2	1,225	114,87	22,0	3,14	3,16	79,98	79,96	4,288	38,2	52,5	0,73	
				5⁰⁰–¹⁶	11.	12,7	1,214	114,87	22,0	3,01	3,01	79,98	79,97	4,161	36,2	50,5	0,72	
				6⁰⁰–¹⁴	12.	19,6	1,341	115,03	22,2	2,69	2,68	79,94	79,95	3,791	35,6	50,8	0,70	
					Mittel	**13,8**	**1,214**								**36,3**	**51,2**	**0,71**	
3. V.	Wie am 2. V.	15 g Arabinose (85,76 %) mit Futter	} Sehr unruhig; Durchfall I zwischen 12⁰⁰ und 1⁰⁰ nachm. und Durchfall II um 8⁴⁵ nachm. In Durchfall I und II kein Zucker.																
8. V.	Wie am 2. V.	15 g Arabinose (85,76 %) mit Futter	7,20	4⁰⁰–¹⁸	10.	11,4	1,095	112,42	20,6	3,15	3,11	80,00	80,06	4,344	33,9	47,5	0,71	} Kein Durchfall.
				5⁰⁰–¹⁹	11.	12,8	1,077	112,44	20,7	3,03	3,02	80,10	80,12	4,340	32,3	46,7	0,69	
				6⁰⁰–²⁰	12.	10,5	0,043	112,36	20,6	3,15	3,17	80,02	80,00	4,349	32,6	45,3	0,72	
					Mittel	**11,6**	**1,071**								**32,9**	**46,5**	**0,707**	
10. V.	Wie am 2. V.	0	7,05	3⁰⁰–¹⁹	9.	11,2	1,090	113,00	19,2	3,43	3,42	80,15	80,15	4,790	37,0	52,2	0,71	
				4⁰⁰–¹⁹	10.	10,0	1,097	113,30	20,0	3,37	3,37	80,23	80,24	4,842	36,6	53,1	0,69	
				5⁰⁰–¹⁹	11.	10,4	1,108	113,50	20,0	3,28	3,28	80,26	80,27	4,791	36,0	53,1	0,68	
				6⁰⁰–¹⁸	12.	10,8	1,099	113,30	19,9	3,30	3,30	80,26	80,27	4,811	35,9	52,9	0,68	
					Mittel	**10,6**	**1,098**								**36,4**	**52,8**	**0,69**	
13. V.	Wie am 2. V.	15 g Arabinose (85,76 %) mit Futter	7,32	4⁰⁰–¹⁸	10.	12,7	1,180	112,87	19,1	3,05	3,06	80,12	80,09	4,363	35,7	51,5	0,69	Durchfall um 1¹⁵ nachm. mit 0,18 g Arabinose.
				5⁰⁰–¹⁷	11.	15,5	1,159	112,88	19,0	2,82	2,82	80,14	80,15	4,179	32,3	48,4	0,67	II. Durchfall um 3⁰⁰ nachm. mit 0,54 g Arabinose. Unruhig.
				6⁰⁰–¹⁷	12.	17,8	1,225	112,77	18,9	2,79	2,79	80,09	80,09	4,085	33,8	50,0	0,68	
					Mittel	**15,3**	**1,188**								**33,9**	**49,9**	**0,68**	

Tabelle V.

Stickstoffausscheidung im Harn.

Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter pro Tag g	Stickstoff im Futter pro Tag g	Im Harn ausgeschieden pro Tag g	Bemerkungen
21. I.	120 g Fleisch + 30 g Schmalz + 50 ccm Wasser . . .	—	3,99	4,29	
22.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 50 ccm Wasser . . .	—	3,99	4,29	
24.	Wie am 22. I. + 120 ccm Wasser	7,5 g Traubenz.	3,99	3,83	
25.	Wie am 24. I.	15 g Traubenz.	3,99	3,66	
26.	120 g Fleisch + 28 g Schmalz + 120 ccm Wasser . .	30 g Traubenz.	3,99	3,21	
28.–29.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 100 ccm Wasser . .	ohne Zucker	3,99	5,955 (2,98)	
30.–31.	Wie am 28. I.	„ „	3,99	6,135 (3,07)	
1.–2. II.	„ „ 28. I.	„ „	4,23	7,395 (3,70)	
3.–4.	„ „ 28. I.	„ „	4,23	7,80 (3,90)	
5.	„ „ 28. I.	7,5 g Traubenz.	4,23	3,76	
6.	„ „ 28. I.	15 g Traubenz.	4,23	3,48	
7.	120 g Fleisch + 21 g Schmalz + 100 ccm Wasser . .	30 g Traubenz.	4,23	Harn verloren —	
8.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 100 ccm Wasser . .	7,5 g Traubenz.	4,23	6,56 (3,28)	
9.	Wie am 8. II.	ohne Zucker	4,23		
10.	„ „ 8. II.	7,5 g Arabinose (93,4 %)	4,23	7,10 (3,55)	
11.	„ „ 8. II.	ohne Zucker	4,23		
12.	„ „ 8. II.	15 g Arabinose (93,4 %)	4,23	—	
13.	„ „ 8. II., aber 240 ccm Wasser	30 g Arabinose (93,4 %)	4,23	—	
19.–21.	Wie am 8. II., ...	ohne Zucker	4,29	12,006 (4,00)	
23.	Wie am 8. II.	15 g Arabinose (93,4 %)	4,29	—	
24.	„ „ 8. II., aber 190 ccm Wasser	30 g Arabinose (93,4 %)	4,29	—	

Tabelle V (Fortsetzung).

Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter pro Tag g	Stickstoff im Futter pro Tag g	Im Harn ausgeschieden: in den ersten 7 Stunden nach Fütterung g	Im Harn ausgeschieden: in den folg. 17 Stunden nach Fütterung g	Im Harn ausgeschieden: pro Tag g	Bemerkungen
27. II.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 100 ccm Wasser . .	ohne Zucker	4,29	1,16	—	—	
28.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 100 ccm Wasser . .	„ „	4,29	—	—	3,76	
29.	Wie am 27. II., aber 200 ccm Wasser	„ „	4,29	1,48 (35,6%)	2,67 (64,4%)	4,15 (100%)	
1. III.	Wie am 29. II.	15 g Arabinose (93,4%)	4,29	0,99 (26,1%)	2,80 (73,9%)	3,79 (100%)	
6.	Wie am 29. II.	15 g Arabinose (93,4%)	4,20	0,97 (24,9%)	2,95 (75,1%)	3,92 (100%)	
12.	„ „ 29. II.	15 g Traubenzucker	4,20	1,46 (33,9%)	2,84 (66,1%)	4,30 (100%)	
18.	„ „ 29. II.	15 g Traubenzucker	4,20	1,30 (34,6%)	2,45 (65,4%)	3,75 (100%)	
20.	Kein Futter bis 3h 15′ nachm.	3 mal je 5 g Arabinose jede Stunde m. 240 ccm Wasser total	4,06	0,74	—	—	
22.	„ „ „ 3h 15′ „	3 mal je 5 g Traubenzucker jede Stunde mit 300 ccm Wasser total	4,06	0,75	— (In der 6. bis 12. Std. n. Fütterg.)	—	
2. V.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 200 ccm Wasser . .	ohne Zucker	4,18	—	1,10	—	
3.	Wie am 2. V.	15 g Arabinose (85,76%)	4,18	—	—	—	
7.	„ „ 2. V.	ohne Zucker	4,18	—	—	3,95	
8.	„ „ 2. V., aber 300 ccm Wasser	15 g Arabinose (85,76%)	4,15	—	1,13	—	
10.	Wie am 8. V.	ohne Zucker	4,15	—	1,18	—	
13.	„ „ 8. V.	15 g Arabinose (85,76%)	4,15	—	1,02	—	
17.	„ „ 8. V.	15 g Arabinose (85,76%)	4,15	—	1,09	—	

Bis zu 7,5 g wurden ohne sichtliche Darmreizung vertragen, nach 15 g trat zuweilen schon Durchfall auf, bei noch größeren Mengen regelmäßig. Auch bei ganz wässerigem Kot war

Tabelle V (Fortsetzung).

Datum	Futter pro Tag	Zucker im Futter pro Tag g	Stickstoff im Futter pro Tag g	Im Harn ausgeschieden: während d. ersten 10½ Stdn. g	während d. folgenden 13½ Stdn. g	pro Tag g	Bemerkungen
18. V.	120 g Fleisch + 45 g Schmalz um 10h vorm. mit 100 ccm Wasser	ohne Zucker	4,15	—	—	3,17	
19.	Kein Futter	15 g Traubenzucker mit 300 ccm Wasser	0	—	—	2,23	
20.	Wie am 18. V.	ohne Zucker	4,15	—	—	3,01	
21.	„ „ 18. V.	„ „	4,15	1,56 (46,4%)	1,80 (55,6%)	3,36 (100%)	
22.	Kein Futter	15 g Arabinose (87,56% rein) mit 300 ccm Wasser	0	1,30 (62,0%)	0,79 (38,0%)	2,09 (100%)	Durchfall zwisch. 6 bis 7 Uhr abends (ohne Harn).
23.	Wie am 18. V.	ohne Zucker	4,15	—	—	—	Durchfall währ. der Nacht vom 23.—24. V.
24.	„ „ 18. V.	„ „	4,15	1,53 (44,0%)	1,95 (56,0%)	3,48 (100%)	
25.	Kein Futter	15 g Arabinose (87,56%) mit 300 ccm Wasser	0	0,591 1,176 [1] 0,245 [2] 2,012	0,805	2,82	[1]) Zwischen 4 bis 5 Uhr nachm. Durchf. m. Harn gemischt. [2]) Um 6 bis 8 Uhr abds. Durchfall ohne Harn.
11. VI.	Wie am 18. V.	ohne Zucker	4,15	—	—	3,10	
12.	Hungertag + 300 ccm Wasser; Harn verloren .		—	—	—	—	
14.	Wie am 18. V.	„ „	4,15	—	—	3,35	
15.	Kein Futter. Hungertag + 300 ccm Wasser . .		0	—	—	2,09	
17.	120 g Fleisch + 33 g Schmalz + 200 ccm Wasser . .	„ „	4,15	—	—	3,67	
18.	Wie am 17. VI.	10 g Arabinose (87,56%)	4,15	—	—	3,63	
19.	„ „ 17. VI.	10 g Arabinose	4,15	—	—	3,63	
20.	„ „ 17. VI.	10 g „	4,15	—	—	3,52	

übrigens die darin enthaltene Menge Arabinose nur gering, wie aus den Fußnoten der Tabelle VI ersichtlich ist. Die Ausscheidung im Harn findet hauptsächlich in den ersten 7 Stunden nach der Fütterung statt und ist in der 11. Stunde nahezu beendet.

Bei Betrachtung der Respirationsversuche fällt zunächst auf (vgl. Tabelle I) daß am 5. II. nach Zufügung von 7,5 g Traubenzucker zum kohlenhydratfreien Erhaltungsfutter der

Tabelle VI.

Ausscheidung der Arabinose im Harn.

Datum	Menge der Arabinose im Futter g	Im Harn ausgeschieden: in den ersten 7 Stunden n. Fütterung g	in den letzten 17 Stunden g	im ganzen g	Prozente der aufgenommenen Menge	Bemerkungen
10. II.	7,5 g Arabinose (rein 7,00 g) mit Futter und 100 ccm Wasser .	—	—	3,36	48,0	Kein Durchfall.
12.	15 g Arabinose (rein 14,01 g) mit Futter und 100 ccm Wasser .	—	—	6,64	47,4	„ „
13.	30 g Arabinose (rein 28,02 g) 15 g mit Futter und 150 ccm Wasser und 15 g 3 Std. später mit 90 ccm Wasser	—	—	10,98	39,2	Durchf. um 4h30′ nachm.
23.	15 g Arabinose (rein 14,01 g) mit Futter und 100 ccm Wasser .	—	—	7,15	51,0	Kein Durchfall.
24.	30 g Arabinose (rein 28,02 g) 15 g mit Futter und 150 ccm Wasser und 15 g 3 Std. später mit 90 ccm Wasser	—	—	14,31 [1]	51,1	Durchfall nach Versuch um 5 1/2 bis 6h abends.
1. III.	15 g Arabinose (rein 14,01 g) mit Futter und 200 ccm Wasser .	3,84	3,12	6,96	49,7	Kein Durchfall.
6.	15 g Arabinose. Wie am 1. III.	3,84 (54,2%)	3,25 (45,8%)	7,09 (100%)	50,6	„ „
20.	15 g Arabinose (rein 14,01 g) ohne Futter à 5 g jede Stunde zusammen mit 240 ccm Wasser	3,96 (60,5%)	2,58 (39,5%)	6,54 (100%)	46,7	Durchfall n. 6h abends.
		in den ersten 6 Stdn.	in den nächst. 24 Stdn.			
3. V.	15 g Arabinose (rein 12,86 g) mit Futter und 200 ccm Wasser .	3,90 (70,0%)	1,67 (30,0%)	5,57 (100%)	43,3	Durchf. I bis 1h nachm.; II um 3h 45′ nachm.
8.	15 g Arabinose (rein 12,86 g) mit Futter und 300 ccm Wasser .	3,99 (64,9%)	2,16 (35,1%)	6,15 (100%)	47,8	Kein Durchfall.
13.	15 g Arbainose. Wie am 8. V. (300 ccm Wasser)	4,14 (81,8%)	0,92 [2] (19,2%)	5,06 (100%)	39,3	Durchf. I um 1h15′ nchm.; II um 3h nachm.
17.	15 g Arabinose. Wie am 8. V. .	4,32 (73,6%)	1,55 (26,4%)	5,87 (100%)	45,6	Durchf. I um 1h; II um 3h 20′ nachm.

[1]) Zusammen mit der im Durchfall gefundenen Arabinose.

[2]) In mit Durchfall gemischtem Harn 0,72 g Arabinose gefunden.

Tabelle VI (Fortsetzung).

Datum	Menge der Arabinose im Futter g	Im Harn ausgeschieden: in den ersten $10^1/_2$ Stdn. g	in den nächsten $13^1/_2$ Stdn. g	im ganzen g	Prozente der aufgenommenen Menge	Bemerkungen
22. V.	15 g Arabinose (rein 12,86 g) ohne Futter mit 300 ccm Wasser .	6,21 (98,1%)	0,12 (1,9%)	6,33	49,2	Durchfall zwisch. 6 bis 7^h abds. u. während d. Nacht zum 23.—24. V.
25.	Wie am 22. V.	4,05 [1]) 1,08 [2]) 0,36 [3]) 5,49 (98,0%)	0,12 (2.00%)	5,61 (100%)	43,6	Durchfall 2mal.
18. VI.	10 g Arabinose (rein 8,76 g) mit Futter und 200 ccm Wasser .	—	—	4,32	49,3	Kein Durchfall.
19.	Wie am 18. VI.	—	—	4,32	49,3	
20.	Wie am 18. VI.	—	—	3,96	45,2	
	Mittel				46,8 39,2–51,1	

respiratorische Quotient in der 3. bis 6. Stunde gar nicht erhöht ist. Hier hatte das Tier seit 9 Tagen keine Kohlenhydrate erhalten, war also offenbar stark verarmt an Glykogen. Am nächsten Tage hatte die doppelte Menge Zucker nur eine Erhöhung des Quotienten um 0,02 zur Folge, und erst nach 30 g am nächsten Tage wird ein Maximalwert des Quotienten von 0,90 in der 5. Stunde nach der Mahlzeit, 2 Stunden nach der zweiten Gabe von 15 g, beobachtet. Von besonderem Interesse ist aber, daß jetzt, wo das Tier offenbar seinen Glykogenbedarf einigermaßen gedeckt hat, die vorher unwirksame Menge von 7,5 g den Quotienten im Mittel von 4 Versuchen auf 0,76, in maximo auf 0,79 erhöhte.

Da 745 ccm Sauerstoff zur Verbrennung von 1 g Traubenzucker erforderlich sind, konnte der mittlere Bedarf des in der Verdauung begriffenen Hundes = 55,3 ccm durch 7,5 g Zucker, wenn dieser als alleinige Energiequelle diente, 101 Min. lang,

[1]) Harn gemischt mit Durchfall zwischen 4 bis 5 Uhr nachm.
[2]) Harn ohne Kot.
[3]) Im Durchfall zwischen 6 bis 8 Uhr abends.

durch die höchste verabreichte Zuckermenge von 30 g $6^3/_4$ Stunden lang gedeckt werden.

Wenn der Quotient, wie am 6. II. nur von 0,71 auf 0,73 gestiegen ist, würden nur $^2/_{29}$ der ganzen Sauerstoffaufnahme zur Oxydation von Zucker dienen; dann würden die aufgenommenen 15 g Zucker erst in 4882 Minuten, d. h. in mehr als 3 Tagen aufgebraucht sein.

Bei dem am 8. II. beobachteten R. Q. = 0,76 sind die aufgenommenen 7,5 g Zucker in 10 Stunden aufgebraucht. — Diese Befunde stehen in vollem Einklang mit dem, was Tierarzt Otto Müller bei seinen im hiesigen Institut ausgeführten Respirationsversuchen nach Stärke- und Zuckerfütterung gefunden hat[1]).

Die Tabelle II enthält die Versuche, in denen Arabinose in entsprechenden Mengen wie der Traubenzucker in den eben besprochenen Versuchen dem Futter zugelegt wurde. — Wir hatten erwartet, daß dieser Zucker, der kein Glykogenbildner ist, soweit er nicht mit dem Harn ausgeschieden wird, prompt zur Verbrennung kommen würde; das hätte sich in einer entsprechenden Erhöhung des respiratorischen Quotienten äußern müssen. Diese trat aber nach 7,5 und 15 g Arabinose gar nicht und selbst nach 30 g nur in geringem Maße in die Erscheinung; erst die späteren Versuche vom 23. und 24. II. zeigen nach 15 und mehr noch nach 30 g Arabinose eine Erhöhung des Quotienten um 0,04 bis 0,12, d. h. um Werte, die die Fehlergrenzen dieser Versuchsreihen erheblich übersteigen. Die Versuche der Tabelle III zeigen nun wiederum bei direktem Vergleich des nüchteren Zustandes mit den ersten 4 bis 8 Stunden nach der Mahlzeit gar keine Wirkung der Arabinose auf den respiratorischen Quotienten, und das gleiche zeigt sich bei Verabreichung von Arabinose allein an das nüchterne Tier, während unter gleichen Bedingungen Traubenzucker den Quotienten sichtlich erhöht. Die Prüfung der 9. bis 12. Stunde nach einer mit 15 g Arabinose gemischten Mahlzeit ergab ebenfalls keine Erhöhung des respiratorischen Quotienten. (Tab. IV.) Die Gesamtheit der Versuche führt also zu der Anschauung, daß die Arabinose nur schwer und jedenfalls nicht immer prompt nach ihrer Aufnahme vom Hunde oxydiert wird.

[1]) Diese Zeitschr. 28, 427, 1910.

Tabelle VII.

Gaswechsel: mittlere Werte aus verschiedenen Versuchen.

		Frequenz der Atmung	Atmung pro 1 Minute l	CO_2-Ausscheidung pro 1 Min. ccm	O_2-Verbrauch pro 1 Min. ccm	R. Q.
Im nüchternen Zustande		—	*0,915*	*29,9*	*42,5*	*0,703*
2 bis 6 Stunden nach der Fütterung						
Futter (Fleisch und Schweineschmalz). Ohne Zucker	1. II.	—	1,285	40,2	57,5	0,70
	3.	14,6	1,209	41,0	57,7	0,71
	14.	11,7	1,170	41,3	57,4	0,70
	22.	11,9	1,268	40,4	57,3	0,71
	27.	12,8	1,157	37,8	52,9	0,72
	29.	12,2	1,266	39,6	53,8	0,74
Mittel aus 6 Versuchen		**12,6**	**1,226**	**40,0**	**56,1**	**0,71**
Futter mit Traubenzucker						
7,5 g	5. II.	15,0	1,149	37,7	53,3	0,71
	8.	16,5	1,265	41,7	54,9	0,76
Mittel aus 2 Versuchen		**15,7**	**1,207**	**39,7**	**54,1**	**0,735**
15 g	6. II.	16,7	1,183	38,2	52,3	0,73
	12. III.	14,1	1,347	43,9	56,4	0,78
	18.	15,5	1,332	42,4	56,8	0,75
Mittel aus 3 Versuchen		**15,4**	**1,288**	**41,2**	**55,2**	**0,753**
30 g	7. II.	—	—	*44,2*	*56,2*	*0,78*
Futter mit Arabinose						
7,5 g	10. II.	*12,5*	*1,062*	*35,9*	*51,7*	*0,70*
15 g	12. II.	13,9	0,989	32,9	46,3	0,71
	23.	8,0	0,977	34,5	45,6	0,76
	1. III.	9,2	1,015	33,8	46,7	0,72
	6.	12,3	1,054	35,6	47,9	0,74
Mittel aus 4 Versuchen		**10,9**	**1,009**	**34,2**	**46,6**	**0,73**
30 g	13. II.	—	—	34,3	47,7	0,720
	24.	8,3	0,949	34,7	44,5	0,786
Mittel aus 2 Versuchen		—	—	**34,5**	**46,1**	**0,753**
Werte in % des Gaswechsels bei nüchternem Zustande.						
Futter ohne Zucker		—	134,0	133,8	132,0	101,0
„ mit Traubenzucker . .	7,5 g	—	132,0	132,8	127,3	104,6
„ „ „ .	15,0 „	—	140,8	137,8	129,9	107,1
„ „ „ .	30,0 „	—	—	147,8	132,2	110,9
„ „ Arabinose	7,5 „	—	116,1	120,1	120,7	99,6
„ „ „ . . .	15,0 „	—	110,3	114,4	109,6	103,8
„ „ „ . . .	30,0 „	—	103,7	115,4	108,5	107,1
Werte in % des Gaswechsels bei normalem Futter.						
Futter mit Traubenzucker . .	7,5 g	—	98,5	99,2	96,4	103,5
	15,0 „	—	105,1	103,1	98,4	106,0
	30,0 „	—	—	110,5	100,2	109,9

Tabelle VII (Fortsetzung).

	Frequenz der Atmung	Atmung pro 1 Minute	CO_2-Ausscheidung pro 1 Min.	O_2-Verbrauch pro 1 Min.	R. Q.
Futter mit Arabinose . . . . 7,5 g	—	86,6	89,7	91,4	98,6
15,0 „	—	82,3	85,5	83,1	102,8
30,0 „	—	77,4	86,2	82,2	106,1
Gaswechsel 9 bis 12 Stunden nach der Fütterung.					
		l	ccm	ccm	
Futter ohne Zucker . . . 2. V.	13,8	1,214	36,3	51,2	0,71
10.	10,6	1,098	36,4	52,8	0,69
Mittel aus 2 Versuchen	**12,2**	**1,156**	**36,35**	**52,0**	**0,70**
Futter mit Arabinose					
15 g 8. V.	11,6	1,071	32,9	46,5	0,707
15 g 13.	15,3	1,188	33,9	49,9	0,680
Mittel	**13,4**	**1,130**	**33,4**	**48,2**	**0,693**
Werte in % des Gaswechsels bei nüchternem Zustande.					
Futter ohne Zucker	—	126,3	121,6	122,4	99,6
„ mit 15 g Arabinose 8. V.	—	117,1	110,1	109,4	100,6
„ mit 15 g Arabinose 13.	—	129,8	113,4	117,4	96,7
Mittel für Arabinose	**—**	**123,4**	**111,7**	**113,4**	**98,7**
Werte in % des Gaswechsels bei normalem Futter.					
Futter mit 15 g Arabinose . 8. V.	—	92,1	90,5	89,4	—
13.	—	102,8	93,3	96,0	—
Mittel	**—**	**97,5**	**91,9**	**92,7**	**—**

Interessant ist aber auch die absolute Größe des Sauerstoffverbrauchs nach Aufnahme der Kohlenhydrate. Derselbe ist durchgehends sowohl bei dem verdauenden wie bei dem nüchternen Tiere herabgesetzt. Das erhellt am besten aus den Zusammenstellungen Tabelle VII, VIII und III (20. III. und 22. III.), die kaum eines Kommentars bedürfen. Es sei aber besonders hervorgehoben, daß die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs, die nach der Mahlzeit eintritt und viele Stunden anhält, durch Traubenzucker ein wenig, durch Arabinose sehr erheblich vermindert wird. Mit der Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs geht eine solche der mechanischen Atemvorgänge, des Minutenvolumens und der Frequenz der Atemzüge einher.

Tabelle VIII. Gaswechsel des verdauenden Tieres. Mittelwerte aus verschiedenen Versuchen 2 bis 12 Stunden nach der Fütterung.

	Atmung pro 1 Minute in Liter										CO_2-Ausscheiduug pro 1 Minute in ccm									
	2. Stde. nach Fütterung	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.	2. Stde.	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.
Futter ohne Zucker	1,153	1,181	1,261	1,273	1,311	1,231	1,083	1,161	1,161	1,220	36,1	40,6	41,0	40,6	39,5	38,2	36,2	37,4	36,1	35,7
	1,01-1,20	1,11-1,28	1,13-1,32	1,23-1,32	1,18-1,40	1,19-1,27	1,07-1,09	1,10-1,22	1,11-1,21	1,10-1,34	33-39	38-44	38-43	40-41	39,2-39,8	37-39	35-37	37-38	36-36	35-36
Futter mit Tr.-Zucker 7,5 g	—	1,150	1,175	1,210	1,293	—	—	—	—	—	—	40,0	38,9	39,3	40,5	—	—	—	—	—
	—	1,08-1,21	1,11-1,24	1,25-1,16	1,24-1,35	—	—	—	—	—	—	37-42,7	37-41	38-40	38-43	—	—	—	—	—
15,0 „	1,359	1,263	1,303	—	1,170	—	—	—	—	—	43,7	41,3	42,4	—	35,1	—	—	—	—	—
	1,33-1,38	1,13-1,35	1,25-1,40	—	—	—	—	—	—	—	43-44	39-42	40-45	—	—	—	—	—	—	—
30,0 „	—	1,144	1,289	1,781	5,142 (Hacheln)	1,369	—	—	—	—	—	36,9	41,8	55,1	48,6	38,8	—	—	—	—
Futter mit Arabinose 7,5 g	—	1,042	0,967	1,137	1,103	—	—	—	—	—	—	35,6	34,3	37,2	36,6	—	—	—	—	—
15,0 „	0,890	0,912	1,000	0,992	1,135	1,321	—	1,137	1,118	1,134	30,4	32,4	35,2	33,8	36,2	39,9	—	34,8	32,3	32,2
	0,88-0,90	0,87-0,98	0,95-1,05	0,98-1,00	1,11-1,17	—	—	1,09-1,18	1,08-1,16	1,04-1,22	29-31	30-35	33-37	32-35	35-38	—	—	34-36	32-32	33-34
30,0 „	—	0,918	0,996	1,074	1,130	1,129	—	—	—	—	—	32,8	33,7	34,4	37,3	42,4	—	—	—	—
	—	0,86-0,98	0,89-1,10	0,98-1,16	1,06-1,20	—	—	—	—	—	—	32-34	33-35	33-36	36-38	—	—	—	—	—

	O_2-Verbrauch pro 1 Minute in ccm										R. Q.									
	2. Stde. nach Fütterung	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.	2. Stde.	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.
Futter ohne Zucker	51,8	56,7	57,2	56,0	56,0	54,1	51,6	52,8	51,8	51,9	0,70	0,72	0,725	0,725	0,705	0,705	0,70	0,71	0,70	0,69
	51-52,6	52-59	53-60	55-56	54-57	53-55	51-52	52-53	50-53	51-53	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Futter mit Tr.-Zucker 7,5 g	—	56,2	53,7	53,8	52,7	—	—	—	—	—	—	0,715	0,725	0,73	0,77	—	—	—	—	—
	—	55-57	53-54	53-55	51-54	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15,0 „	57,9	54,5	56,1	—	48,7	—	—	—	—	—	0,755	0,76	0,77	—	0,72	—	—	—	—	—
	56-59	53-55	55-58	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30,0 „	—	51,7	55,2	61,4	57,3	55,6	—	—	—	—	—	0,71	0,76	0,90	0,85	0,70	—	—	—	—
Futter mit Arabinose 7,5 g	—	50,1	49,2	53,1	53,0	—	—	—	—	—	—	0,71	0,70	0,70	0,69	—	—	—	—	—
15,0 „	42,1	44,6	45,9	45,7	50,6	56,1	—	49,5	47,6	47,7	0,72	0,725	0,79	0,74	0,713	—	—	0,70	0,68	0,70
	41-43	42-46	43-47	45-45	49-52	—	—	47-51	47-48	45-50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30,0 „	—	44,5	46,9	45,7	47,2	51,7	—	—	—	—	—	0,735	0,72	0,75	0,79	0,82	—	—	—	—
	—	43-46	44-50	45-46	46-49	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Atmung pro 1 Minute in Liter										CO_2-Ausscheidung pro 1 Minute in ccm									
	2. Stde. nach Fütterung	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.	2. Stde.	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.
Werte in % des Gaswechsels bei nüchternem Zustande.																				
Futter ohne Zucker	126,0	129,1	137,8	139,1	143,3	134,5	118,3	126,9	126,9	133,3	120,7	135,8	137,1	135,8	132,1	127,7	121,1	125,1	120,7	119,4
Futter mit Tr.-Zucker 7,5 g	—	125,7	128,4	132,2	141,3	—	—	—	—	—	—	133,8	130,1	131,4	135,4	—	—	—	—	—
15,0 „	148,5	138,0	142,4	—	127,9	—	—	—	—	—	146,1	138,1	141,8	—	117,4	—	—	—	—	—
30,0 „	—	125,1	140,9	—	—	149,6	—	—	—	—	—	123,4	139,8	184,3	162,5	129,8	—	—	—	—
Futter mit Arabinose 7,5 „	—	113,9	105,7	124,3	120,6	—	—	—	—	—	—	119,0	114,7	124,4	122,4	—	—	—	—	—
15,0 „	97,3	99,7	109,3	108,4	124,0	—	—	124,3	122,2	123,9	101,7	108,4	117,7	113,0	121,1	—	—	116,4	108,0	111,0
30,0 „	—	100,3	108,9	117,4	123,5	123,4	—	—	—	—	—	109,7	112,7	115,0	124,8	141,8	—	—	—	—
Werte in % des Gaswechsels bei normalem Futter (ohne Zucker).																				
Futter mit Tr.-Zucker 7,5 g	—	97,4	93,2	95,0	98,6	—	—	—	—	—	—	98,5	94,9	96,8	102,8	—	—	—	—	—
15,0 „	117,9	107,0	103,3	—	89,2	—	—	—	—	—	121,1	101,7	103,4	—	88,9	—	—	—	—	—
30,0 „	—	96,9	102,2	—	—	—	—	—	—	—	—	90,9	102,0	135,7	128,0	—	—	—	—	—
Futter mit Arabinose 7,5 „	—	88,3	76,7	89,3	84,1	—	—	—	—	—	—	87,7	83,7	91,6	92,7	—	—	—	—	—
15,0 „	77,2	77,2	77,9	77,9	86,6	—	—	97,9	96,3	92,9	84,2	79,8	85,8	83,3	91,6	—	—	93,0	89,5	93,0
30,0 „	—	77,7	79,0	84,4	86,2	—	—	—	—	—	—	80,8	82,2	84,7	94,4	—	—	—	—	—

	O_2-Verbrauch pro 1 Minute in ccm										R. Q.									
	2. Stde. nach Fütterung	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.	2. Stde.	3. Stde.	4. Stde.	5. Stde.	6. Stde.	7. Stde.	9. Stde.	10. Stde.	11. Stde.	12. Stde.
Werte in % des Gaswechsels bei nüchternem Zustande.																				
Futter ohne Zucker	121,9	133,4	134,6	131,8	131,8	127,3	121,4	124,2	121,9	122,1	99,6	102,4	102,4	103,1	100,3	100,3	99,6	101,0	99,6	98,2
Futter mit Tr.-Zucker 7,5 g	—	132,3	126,4	126,6	124,0	—	—	—	—	—	—	101,7	103,1	103,8	109,5	—	—	—	—	—
15,0 „	136,2	131,3	132,0	—	114,6	—	—	—	—	—	107,4	108,1	109,5	—	102,4	—	—	—	—	—
30,0 „	—	121,7	129,9	144,5	134,8	130,8	—	—	—	—	—	101,0	108,1	128,0	120,9	99,6	—	—	—	—
Futter mit Arabinose 7,5 „	—	117,9	115,8	125,0	124,7	—	—	—	—	—	—	101,0	99,6	99,6	98,2	—	—	—	—	—
15,0 „	99,6	105,0	108,0	107,5	119,0	—	—	116,5	112,0	112,2	102,4	103,1	112,4	105,3	101,4	—	—	99,6	96,8	99,6
30,0 „	—	104,7	110,4	107,5	111,1	121,4	—	—	—	—	—	104,6	102,4	106,7	112,4	116,7	—	—	—	—
Werte in % des Gaswechsels bei normalem Futter (ohne Zucker).																				
Futter mit Tr.-Zucker 7,5 g	—	99,1	93,9	96,1	94,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15,0 „	111,8	96,1	98,1	—	87,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30,0 „	—	91,2	96,5	109,6	102,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Futter mit Arabinose 7,5 „	—	88,4	86,0	94,8	94,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15,0 „	81,3	78,7	80,2	81,6	90,4	—	—	93,7	91,9	91,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30,0 „	—	78,5	82,0	81,6	84,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IX.

Energieverbrauch bei nüchternem Zustande und bei Aufnahme der Arabinose und des Traubenzuckers.

	Aufnahme des Zuckers	Zeit des Versuchs	Stündliche N-Ausscheidung im Harn g	Energieverbrauch pro 1 Stunde Cal	Energieverbrauch in % desselben bei nüchternem Zustande	Energieverbrauch in % desselben bei nüchternem Zustande (Mittel aus 8 Versuchen)	Respiratorischer Quotient
Mittel aus 8 Versuchen bei nüchternem Zustande . .	—	—	0,0871	**11,79**	—	**100,0**	0,703
20. III. In nüchternem Zustande, 22. Stunde nach Fütterung	—	9^{47}—10^{59} vorm.	0,0871	*12,27*	*100,0*	—	0,70
Arabinose . . . . . 5 g	11^{02} vorm.	11^{56}—12^{20}	0,1057	11,11	90,5	94,3	0,70
„ . . . . . 5 g	12^{30} nachm.	1^{00}—^{23}	0,1057	11,59	94,5	98,3	0,70
„ . . . . . 5 g	1^{27} „	2^{00}—^{22}	0,1057	11,93	97,2	101,2	0,71
	Mittel aus 3 Versuchen		—	**11,54**	**94,1**	**97,9**	—
22. III. In nüchternem Zustande, 22. Stunde nach Fütterung	—	9^{33}—10^{45}	0,0871	*11,54*	*100,0*	—	0,675
Traubenzucker . . . . . 5 g	11^{00} vorm.	12^{00}—^{20}	0,1071	11,16	96,7	94,7	0,81
„ . . . . . 5 g	12^{24} nachm.	1^{01}—^{19}	0,1071	12,54	108,7	106,4	0,78
„ . . . . . 5 g	1^{25} „	2^{00}—^{16}	0,1071	12,60	109,2	107,0	0,80
	Mittel aus 3 Versuchen		—	**12,10**	**104,9**	**102,7**	—

Die geringe Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs nach Traubenzucker erklärt sich zum Teil aus dem höheren calorischen Wert des Sauerstoffs bei Kohlenhydratverbrennung gegenüber der von Fett. Es ist deshalb wichtig, aus Sauerstoffverbrauch und respiratorischen Quotienten den Energieumsatz zu berechnen. Das ist in Tabelle IX und X geschehen. Erstere zeigt, daß beim nüchternen Tier Zufuhr von Traubenzucker den Energieumsatz ein wenig erhöht — in Übereinstimmung mit allen älteren Erfahrungen. Arabinose aber setzt den Verbrauch entschieden etwas unter den Nüchternwert herab. Das ist um so bemerkenswerter, als die Arabinose unverkennbar reizend auf die Darmbewegungen, vielleicht auch auf die Sekretionen wirkt. Meine Erfahrung reiht sich also denen von Benedict an, in welchen er nach Abführmitteln und mechanischer Belastung des Darmkanals mit Agar keine Steigerung des Energieverbrauches fand. Er schloß aus seinen Versuchen, viel-

Tabelle X.

Energieverbrauch des verdauenden Tieres von der 2. bis 12. Stunde nach dem Füttern.

A. Absolute Werte des Energieverbrauches, Calorien pro 1 Stunde.

		Stunde nach dem Füttern									
		2.	3.	4.	5.	6.	7.	9.	10.	11.	12.
Futter ohne Zucker	Stdl. N-Ausscheid. i. Harn g	0,1885	0,1695					0,190			
	Energieverbr. pro 1 Std. . Cal	14,26	15,64	15,78	15,44	15,44	14,90	14,17	14,51	14,23	14,26
	Resp. Quotient	0,70	0,72	0,72	0,725	0,705	0,705	0,70	0,71	0,70	0,69
Futter mit Traubenzucker:											
7,5 g Traub.-Zucker	Stdl. N-Ausscheid. i. Harn g	—	0,1467								
	Energieverbr. pro 1 Std. . Cal	—	15,55	14,84	14,87	14,69					
	Resp. Quotient	—	0,715	0,725	0,73	0,77					
15,0 g Traub.-Zucker	Stdl. N-Ausscheid. i. Harn g		0,1972			—					
	Energieverbr. pro 1 Std. . Cal	15,99	15,04	15,49	—	—					
	Resp. Quotient	0,755	0,76	0,77	—	0,72					
30,0 g Traub.-Zucker	Stdl. N-Ausscheid. i. Harn g	—	0,141								
	Energieverbr. pro 1 Std. . Cal	—	14,29	15,37	17,78	16,35					
	Resp. Quotient	—	0,71	0,76	0,90	0,85	0,70				
Futter mit Arabinose:											
15,0 g (14,01 g) Arab.	Stdl. N-Ausscheid. i. Harn g		0,140						0,179		
	Energieverbr. pro 1 Std. . Cal	11,58	12,29	12,69	12,61	13,98	—	—	13,59	13,06	13,09
	Resp. Quotient	0,72	0,725	0,79	0,74	0,713	—	—	0,70	0,68	0,70
30 g (28,02 g) Arab.	Stdl. N-Ausscheid. i. Harn g	—	0,140								
	Energieverbr. pro 1 Std. . Cal	—	12,26	12,93	12,65	13,21	14,62				
	Resp. Quotient	—	0,735	0,72	0,75	0,79	0,82				

B. Werte in % des Energieverbrauches bei nüchternem Zustande.

Futter ohne Zucker	121,0	132,7	133,8	131,0	131,0	126,4	120,2	123,1	120,7	121,0
„ mit Traubenzucker . 7,5 g	—	131,9	125,9	126,1	124,6					
„ „ „ . 15,0 g	135,6	127,6	131,4	—	—					
„ „ „ . 30,0 g	—	121,2	130,4	150,8	138,7					
„ „ Arabinose . . . 15,0 g	98,2	104,2	107,6	107,0	118,6	—	—	115,3	110,8	111,0
„ „ „ . . . 30,0 g	—	104,0	109,7	107,3	112,0	124,0				

C. Werte in % des Energieverbrauches bei Normalfutter (ohne Zucker).

Futter mit Traubenzucker . 7,5 g	—	99,4	94,0	96,3	95,1					
„ „ „ . 15,0 g	112,1	96,2	98,2	—	—					
„ „ „ . 30,0 g	—	91,4	97,4	115,2	105,9					
„ „ Arabinose . . . 15,0 g	81,2	78,6	80,4	81,7	90,5	—	—	93,7	91,8	91,8
„ „ „ . . . 30,0 g	—	78,4	82,0	81,9	85,6	98,1				

leicht in zu weitgehender Verallgemeinerung, daß die Darmbewegung und auch die Sekretion keinen nachweisbaren Einfluß auf die Gesamtverbrennungen habe. Zu einer gewissen Vorsicht gegenüber zu weitgehenden Schlüssen aus diesen Versuchen mahnt meine Erfahrung mit Arabinose, die den Energieumsatz entschieden herabsetzt, stärker bei dem seine normale Nahrung verdauenden Tiere (Tabelle X) als beim nüchternen.

In welchen Organen und durch welchen Mechanismus diese merkwürdige Wirkung der Arabinose und die ähnliche, wenn auch viel schwächere des Traubenzuckers zustande kommt, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Die andere von mir gefundene Tatsache, daß die Arabinose in der ersten Zeit nach ihrer Resorption sich nicht merklich an den Oxydationsprozessen beteiligt, obwohl ungefähr 40 bis 50 % im Körper reteniert werden, legt es nahe, an eine Ablagerung derselben resp. Bindung an andere Moleküle zu denken — analog der Glykogenbildung aus Hexosen.

Entsprechend der großen Bedeutung der Pentosane für die Ernährung der Pflanzenfresser, speziell auch der Wiederkäuer, wird bei diesen die Pentose viel vollständiger im Körper verwertet.

Ich fand in einigen Versuchen an zwei Ziegen, daß nur ganz geringe Mengen Arabinose in den Harn übergingen. Bei einem 3 Monate alten Zicklein (8,00 kg Lebendgewicht) wurden nur 19,5 % von 15,496 g der aufgenommenen reinen Arabinose ausgeschieden. Bei einer alten Ziege (31,00 kg Lebendgewicht) ward nach der Aufnahme von 30,99 g reiner Arabinose kein Zucker ausgeschieden. Zum Teil wenigstens kann sich dies daraus erklären, daß die Pentosen und speziell Arabinose, wie Markoff in diesem Laboratorium gezeigt hat, reichlich von den Pansenorganismen vergoren wird.

Studien über Pigment.

Über eine neue Darstellungsmethode des Pigments und den Vergleich verschiedenfarbiger Haarpigmente.

Von

Hugo Fasal.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig-Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 4. August 1913.)

Im Verlaufe der im hiesigen Institute durchgeführten Untersuchungen über die Natur des Pigmentes[1]), und nachdem C. Neuberg[2]) die Melaninbildung aus Tryptophan auf andere Weise nachgewiesen und mehrfach betont hatte, und durch Untersuchungen von H. Eppinger[3]) sind wir zu der Ansicht gelangt, daß die Quelle des Pigmentes nicht, wie früher angenommen wurde, der Blutfarbstoff und auch nicht, wie später angenommen wurde, das Tyrosin ist, sondern daß vielmehr die Muttersubstanz des Pigmentes das Tryptophan ist. Insbesondere in der Arbeit von H. Eppinger konnte direkt die Entstehung des Melanins und des Melanogens aus dem Tryptophan experimentell erwiesen werden. Um nun über das Kondensationsprodukt selbst, das Pigment, mehr zu erfahren, war es notwendig, dieses reiner darzustellen als es bis jetzt in anderen Laboratorien und bei uns gelungen ist. Die große Schwierigkeit der Reindarstellung beruht darauf, daß bei der sauren Hydrolyse der Horngebilde, die das Pigment einschließen, sich selbstverständlich auch künstliche Melanoidine bilden, deren Trennung von dem eigentlichen Pigment technisch nicht gut möglich ist. Der

---

[1]) E. Spiegler, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 40; **10**, 252.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 8, 383, 1907; Virchows Archiv **192**, 514, 1908 u. Zeitschr. f. Krebsforsch. 8, 1909.

[3]) H. Eppinger, diese Zeitschr. 28, 181, 1910.

Einwirkung von Fermenten aber sind die Keratine nicht zugänglich, und so entfällt dieser Weg.

Zu den ersten Arbeiten, die die Natur des Haarpigmentes zu ergründen suchten, und die sich mit der Darstellung des Pigmentes aus den Haaren beschäftigten, gehören die von Nencki und N. Sieber[1]), die den schwarzen Farbstoff der Roßhaare und das Melanin aus den Tintenbeuteln der Sepia untersuchten. I. C. Abel und W. S. Davis[2]) stellten das Pigment mit 5%iger Kalihydratlösung auf dem Wasserbade oder durch konzentrierte Salzsäure her, die die Epidermis vollständig auflöst, aber nicht die Pigmentkörner, die als ein schwarzes Sediment zu Boden fallen. Die Gesamtmenge des Pigmentes aus der Haut eines erwachsenen Negers betrug 1 g. Die Pigmente der Haut und der Haare des Negers sind wahrscheinlich identisch. Es ist höchst wahrscheinlich, daß das Pigment der Negerhaare nicht verschieden ist von dem dunklen Pigment in dem Haare der weißen Rasse, und man kann annehmen, daß das Pigment der Negerhaut nur in Quantität und nicht in Qualität von dem in der Haut der Weißen gefundenen Pigment differiert. Walter Jones[3]) gewann das Pigment aus Pferdehaaren mit konzentrierter Salzsäure und durch Schmelzen der Pigmentkörnchen mit kaustischem Kali. Das Melanin wird mit Salzsäure ausgefällt.

Was das Verhältnis der Pigmentmenge zu den verschiedenen Farben betrifft, so bildete diese Frage nicht nur für Haut und Haare (s. I. C. Abel und W. S. Davis), sondern auch für die Pigmente der Organe den Gegenstand von Untersuchungen. So fand N. Floresco[4]), daß die Leber und die Haut von Tieren mit dunklen Haaren fast doppelt soviel Eisen und Pigment enthält, als dieselben von Tieren mit weißen Haaren.

Eduard Metschnikoff[5]) führt das Weißwerden der Haare auf pigmentophage Zellen, die die Pigmentkörner absorbieren und die er Chromophagen nennt, zurück. Er nimmt an, daß es sich bei diesen um lebende Elemente handelt, die auf äußere Reize empfindlich reagieren und Pigmentkörner aufsaugen. Auf dem Wege der chemischen Untersuchung sucht Spiegler[6]) die Frage nach der Herkunft des tierischen

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **24**, 17, 1888.

[2]) I. C. Abel und W. S. Davis, Über das Pigment der Negerhaut und der Haare. Journ. of Experim. Med. **1**, 361, 1896.

[3]) Walter Jones, Die Chemie der Melanine. Americ. Journ. of Physiol. **2**, 380, 1900.

[4]) N. Floresco, Beziehungen zwischen Leber, Haut und Haar betreffs des Pigmentes und des Eisens. Arch. de med. experim. et d'anat. pathol. **14**, 141, 1902.

[5]) Eduard Metschnikoff, Biolog. Untersuchungen über das Greisenalter. Annales de l'Inst. Pasteur **15**, 865, 1902.

[6]) Spiegler, Über das Haarpigment. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 400, 1903.

Pigmentes zu lösen. Er gewann das Pigment aus Roßhaaren durch Kochen mit konzentrierter Salzsäure. Er zeigte, daß aus dem Pigment der Haare keine von den tiefen Abbauprodukten der färbenden Komponente des Hämoglobins erhalten werden kann, und fand ein weißes Chromogen, das er für die Ursache der Farbe der weißen Schafwolle und des Schimmelhaares hält. In einer zweiten Mitteilung versucht Spiegler die Resultate seiner chemischen Untersuchungen am Haarpigment mit denen von H. Wolff[1]) in Einklang zu bringen. Dieser fand bei der Untersuchung einer melanotischen Leber zweierlei Pigmente, ein sodalösliches und sodaunlösliches. Er stellte das Pigment durch Verdauung mit Pepsinsalzsäurelösung, Behandlung mit Sodalösung und Fällung mit Essigsäure dar.

O. v. Fürth und Ernst Jerusalem[2]) gewannen aus melanotischen Lymphdrüsentumoren der Pferde durch Kochen mit konzentrierter rauchender Salzsäure und Kali und Kalischmelze eine Melaninsäure. Nach ihren Angaben unterschied sich das Pigment aus diesen melanotischen Tumoren durch seine Unlöslichkeit selbst in konzentrierten Alkalilaugen von anderen Melaninen, so insbesondere von den Pigmenten epidermoidaler Gebilde, eine Unterscheidung, die, wie aus den folgenden Ausführungen zu ersehen ist, nicht zutrifft.

Ausführliche Untersuchungen über den Ursprung des melanotischen Pigmentes der Haut bringt E. Meirowsky[3]), der die epidermale Entstehung des Oberhautpigmentes zeigt. Das Cutispigment entsteht unabhängig von der Epidermis an Ort und Stelle. Die Monographie enthält eine ausführliche Übersicht der vorausgegangenen Arbeiten über Pigment wie die von Kölliker, Riehl, Unna, M. Cohn, Philippsohn, Blaschko u. a. und insbesondere über Ehrmanns gründliche Pigmentarbeiten.

In einer in unserm Institute durchgeführten Arbeit fertigte H. Königstein[4]) bei den zu seinen Versuchen verwendeten Hautstücken zur Kontrolle mikroskopische Schnitte an und konnte bei allen Stücken bei dunklerer Färbung auch mikroskopisch eine Pigmentvermehrung in Epidermis und Cutis nachweisen. Nach seinen Untersuchungen scheint das Pigment aus zwei Substanzen zu entstehen, die durch eine lipoide (Phosphatid-) Zwischenwand getrennt sind. Wenn dieselbe fällt, kommt es durch Vereinigung der beiden zur Pigmentbildung.

---

[1]) H. Wolff, Zur Kenntnis der melanotischen Pigmente. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **5**, 476, 1904.

[2]) O. v. Fürth u. Ernst Jerusalem, Zur Kenntnis der melanotischen Pigmente und der fermentativen Melaninbildung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 131, 1907.

[3]) E. Meirowsky, Über den Ursprung des melanotischen Pigmentes der Haut und der Augen. Leipzig 1908. Verlag Werner Klinkhardt.

[4]) H. Königstein, Über postmortale Pigmentbildung. Münch. med. Wochenschr. **1909**, Nr. 45.

Den Beweis für die Entstehung des Melanins aus dem Tryptophan konnte H. Eppinger[1]) erbringen, da er in einem pathologischen Falle von Melaninbildung einen Zwischenkörper isolieren konnte, der Farbstoff bildend ist und vom Tryptophan abstammte. Er konnte sowohl den chemischen Nachweis der Abstammung dieser Substanz aus Tryptophan sowie ihren Übergang in Melanin erbringen und konnte experimentell zeigen, daß er bei Verfütterung von Tryptophan eine 3mal so große Ausscheidung dieses Körpers als vorher erhielt. Aiken Ross Gortner[2]) unterscheidet ein dominierendes Weiß, wenn nach der Kreuzung eines Tieres mit einem farbigen Individuum derselben Spezies unter der direkten Nachkommenschaft sich wieder weiße Individuen finden, dagegen rezessives, wenn in dem obengenannten Falle die direkte Nachkommenschaft farbig ausfällt. Das dominierende Weiß soll seine Färbung einem weißen Pigment (Melanin ähnlich), das rezessive dem Fehlen von Pigment verdanken. Gortner erklärt die Entstehung von Melanin durch Einwirkung von Oxydase auf oxydables Chromogen und nimmt an, daß das dominierende Weiß ein Antienzym enthält, das die Einwirkung der Tyrosinase auf das Chromogen (Tyrosin) verhindert.

Mit den Ergebnissen unserer chemischen Untersuchungen stimmen die histologischen Befunde überein. P. G. Unna[3]) hebt hervor, daß der Haarschaft neben den auffallenden reihenförmigen Einschlüssen von Pigmentkörnchen noch eine bestimmte Eigenfarbe der Hornzellen besitzt. Das körnige Pigment ist stets braun und reihenweise in und zwischen den Haarzellen gelegen. Je dunkler (braun bis schwarz) die Haare sind, desto mäßiger häuft sich dieses Pigment an, ohne daß seine Farbe und Verteilung sich änderte. Die Dunkelheit, die durch das Haarpigment erzeugt wird, hängt lediglich von dessen Quantität ab.

Die meisten Forscher haben das Pigment, das sie für ihre weiteren Untersuchungen verwendeten, durch saure Hydrolyse dargestellt. Wir haben ein sehr einfaches Verfahren gefunden, um ohne zu kochen und ohne starke Mineralsäure zu verwenden, die Horngebilde auf kaltem Wege vom Pigmente zu trennen. Der Hauptsache nach beruht dieses Verfahren auf der Löslichkeit der Horngebilde in konzentrierter Kalilauge (1 : 1) und der Unlöslichkeit des Pigmentes in derselben.

Unsere Untersuchungen wurden zuerst an schwarzer und weißer Schafwolle vorgenommen und später an Menschenhaaren fortgesetzt. Das Pigment wurde in folgender Weise gewonnen: Dunkle Menschenhaare wurden zuerst mit Wasser und Seife

---

[1]) H. Eppinger, Über Melanurie. Diese Zeitschr. 28, 181, 1910.

[2]) Aiken Ross Gortner, Studien über Melanin. Journ. of Biolog. Chem. 10, 89, 113, 1911.

[3]) P. G. Unna, Biochemie der Haut. Jena 1913. Verlag Gustav Fischer.

gewaschen, gut ausgespült und mit Alkohol extrahiert und nachher im Soxhlet-Apparat mit Äther erschöpft. Eine gewogene Menge so behandelter Haare wurde in einem Scheidetrichter mit der 25 fachen Gewichtsmenge der konzentrierten Kalilauge vermischt. Nach 24 Stunden sind die Haare bereits in kleine Stückchen zerfallen, sie verlieren dann ihre Struktur und das Pigment beginnt sich zu einem Klumpen zusammenzuballen. Nach 48 Stunden findet man, größtenteils auf der Lauge schwimmend, eine zusammengeflossene schwarze Masse. Man trennt nun durch vorsichtiges Ablassen der konzentrierten Lauge, welche die gelösten Eiweißkörper enthält, den Pigmentklumpen ab und läßt ein frisches Quantum der konzentrierten Lauge zufließen, schüttelt sehr gut um und schleudert dann auf der Zentrifuge nach weiteren 24 Stunden das Pigment aus der Lauge heraus. Dieses Rohpigment kocht man nun eine halbe Stunde lang mit 5%iger Kalilauge, wobei es in Lösung geht; man läßt es erkalten und filtriert von den der Hauptsache nach anorganischen Substanzen. Manchmal ist es nötig, das Kochen mit der 5%igen Kalilauge zu wiederholen, um das ganze Pigment in Lösung zu bekommen. Nun säuert man die filtrierte alkalische Lösung mit Schwefelsäure an. Es fällt hierbei ein deutlicher dunkler Niederschlag heraus, den man mit Wasser salzfrei wäscht. Darauf wird mit Alkohol und Äther, dann einmal mit Schwefelkohlenstoff, und gleich darauf wieder mit Äther gewaschen. Die Substanz wurde bei 100° im Trockenschrank getrocknet. Die gewichtskonstante Substanz ergab: 3,07% Asche.

N-Bestimmung nach Dumas: 4,130 mg ergaben bei T. 18° und B. 744°: 7,51% N, d. i. 7,74 (aschefrei).

S-Bestimmung: 7,256 mg ergaben: 0,219 mg Asche, 6,08 mg $BaSO_4$; 3,02% Asche, 11,87% S.

4,299 mg: 0,132 mg Asche, 2,41 mg H_2O, 8,015 mg CO_2; 3,07% Asche, 6,47% H, 52,46% C (aschefrei berechnet).

Berechnet für die Formel:

	$C_{24}H_{35}N_3S_2O_7$:	Gef.:
C	53,23	52,46
H	6,46	6,47
N	7,76	7,51
S	11,82	11,87

Der N- und der C-Wert sind für die Formel zu niedrig, was wahrscheinlich mit dem Carbonatgehalt der Asche zusammenhängt. Wir bleiben bemüht, völlig aschefreies Pigment zu erhalten.

Das Verhältnis des N:C in dieser Formel gleich 1:8 entspricht dem Verhältnis von N:C im Indol-Ring-System, so daß es sich wahrscheinlich um kondensierte Indol-Ring-Systeme ohne Seitenketten handelt.

Es war nun für uns von Interesse festzustellen, ob die Pigmente bei verschieden gefärbten Haaren wirklich verschiedene Farbstoffe sind, oder ob es sich, wie schon I. Abel und W. Davis für die Haut und N. Floresco für andere Organe vermutet haben, nur um quantitative Unterschiede handelt, so daß das schwarze Haar das pigmentreichste, das blonde das pigmentärmere und das weiße das pigmentärmste wäre. Wir haben es vorgezogen, in den Kreis unserer Beobachtungen auch die mit Wasserstoffsuperoxyd künstlich blond gemachten Haare zu ziehen, und dies aus mehreren Gründen. — Es war vor allem interessant zu sehen, ob tatsächlich Wasserstoffsuperoxyd das Pigment vernichtet, und nur der Pigmentrest die Blondfärbung gibt, oder ob der gesamte Farbstoff durch Oxydation der Farbe eine Veränderung erleidet. Es hat schon vor vielen Jahren Casimir Wurster[1]) eine Theorie aufgestellt, nach der das Blond, Schwarzbraun und Weiß der Haare auf dieselbe Art und Weise entsteht wie die weißen, blonden und gelben Schattierungen, die Wasserstoffsuperoxyd bzw. salpetrige Säure mit dem Blutfarbstoff gibt. Grau und Blond sei der Gegenwart von wenig Milchsäure mit viel Wasserstoffsuperoxyd zuzuschreiben, die brünette Farbe entspricht dem Gehalte von Milchsäure und wenig Wasserstoffsuperoxyd, Schwarz hingegen viel Milchsäure und salpetriger Säure. Rot entsteht bei salpetriger Säure und Milchsäure. Männliche blonde und braune Individuen bläuen am leichtesten Tetramethylparaphenylendiamin, welche Reaktion Wurster auf neutrales Wasserstoffsuperoxyd bezieht.

Um der Frage näherzutreten, wie sich das Pigment verschieden gefärbter Haare verhalte, insbesondere wie das Verhalten des Pigments beim Ergrauen der Haare sei, bedienten wir uns folgender Versuchsanordnungen:

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 1033, 1887.

I.

Nachdem wir unsere ersten Untersuchungen mit weißer und schwarzer Schafwolle gemacht hatten, gingen wir an die Untersuchung von Menschenhaaren verschiedener Färbung.

Wir untersuchten Menschenhaare

1. tiefschwarzer Färbung;
2. Haare einer blonden Mittelfarbe;
3. Haare von Greisen mit ganz weißer Farbe;
4. Haare, die mit Wasserstoffsuperoxyd entfärbt waren, und die wir uns in der Weise herstellten, daß wir einen Teil der sub 1 gesammelten schwarzen Haare nach Alkoholätherreinigung mit konzentriertem Wasserstoffsuperoxyd strohgelb entfärbten.

Es wurden nun ganz gleiche Gewichtsmengen dieser vier Haararten in genau derselben Weise behandelt, wie oben bei der Pigmentbereitung angegeben wurde. Die nach Auskochen mit verdünnter Kalilauge erhaltenen klaren Flüssigkeiten, die das Pigment gelöst enthielten, wurden in Bechergläsern nebeneinandergestellt. Wir konnten nun beim Ausfällen mit Schwefelsäure deutlich die sehr interessanten Unterschiede in der Menge des Pigments bei den verschiedenen Haararten konstatieren. Die größten Unterschiede zeigten sich bei den schwarzen Haaren und bei den mit Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Haaren. Während erstere sofort, sobald die Lösung sauer wurde, einen reichlichen dunklen, flockigen Pigment-Niederschlag zeigten, blieb die analoge von den mit Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Haaren herrührende Flüssigkeit ganz klar, und erst nach längerer Zeit fiel ein sehr spärlicher leichter Niederschlag heraus.

Die unter 2 angeführten naturblonden Haare zeigten beim Ansäuern der alkalischen Lösung das Ausfallen eines deutlichen flockigen Pigmentes, nur in deutlich geringerer Menge wie bei 1.

Bei den weißen Greisenhaaren zeigte sich ebenfalls wie bei den mit Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Haaren anfangs nach dem Ansäuern gar keine Fällung. Erst nach längerem Stehenlassen fiel ein minimaler schleierartiger Niederschlag zu Boden.

Wir sehen also, wenn wir die Haare nach der Menge des herausgefallenen Pigments anordnen, die weitaus größte Pigment-

menge beim schwarzen Haar, dann kommt das mittelblonde Haar, dessen verringerte Pigmentmenge auch dem äußeren Farbenunterschied entspricht. Auffallend und sofort in die Augen springend sind die minimalen Pigmentmengen, die sowohl das reinweiße Greisenhaar als auch das mit Wasserstoffsuperoxyd entfärbte, ursprünglich schwarze Haar lieferte. Wenn wir weiße Greisenhaare mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten, konnten wir feststellen, daß die weißen Haare in bezug auf ihre Färbung — ihrem minimalen Pigmentgehalt entsprechend — nicht verändert wurden.

Wir gingen nun daran, die verschiedenen gewonnenen Pigmente colorimetrisch miteinander zu vergleichen. Zu diesem Zwecke stellten wir uns aus den reinen Pigmenten, die wir, wie oben beschrieben, aus ganz gleichen Gewichtsmengen Haaren gewonnen hatten, alkalische Pigmentlösungen in gleicher Menge dar und untersuchten diese verschiedenen Pigmentlösungen in bezug auf ihre Färbekraft. Die aus den dunklen Haaren gewonnene Pigmentlösung stellte eine dunkelbraune, fast schwarzbraune, die aus weißen und den mit Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Haaren gewonnene Lösung stellte eine klare weingelbe Flüssigkeit dar. Die beiden letzteren Lösungen zeigten sich colorimetrisch gleich, während die Lösung aus den dunklen Haaren eine nur 30fache Verdünnung erforderte, um im Apparat von P. Sörensen[1]) dieselbe Konzentration zu zeigen wie die beiden anderen Lösungen.

Mit Rücksicht auf den großen Farbenunterschied, den die schwarzbraune aus den dunklen Haaren gewonnene Pigmentlösung im Vergleich zu den klaren, hellen Lösungen aus weißen und entfärbten Haaren zeigte, war die geringe Färbekraft der ersteren Lösung auffallend. Diese Beobachtung stimmt mit den Untersuchungen von Hensen und Nolke[2]) überein, die die geringe Färbekraft der tierischen Melanine feststellen konnten.

Wenn wir die Ergebnisse unserer Arbeit zusammenfassen, so fanden wir:

1. eine neue Darstellung des Pigments auf kaltem Wege;

---

[1]) Diese Zeitschr. **21**, 202.

[2]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **62**, 347, 1899.

2. die Tatsache, daß die Unterschiede im Pigmentgehalt verschieden gefärbter Haare hauptsächlich quantitativer Natur sind;

3. durch die Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd erleidet der gesamte Farbstoff durch Oxydation eine Veränderung, wobei der gefärbte Körper in einen ungefärbten übergeht. Die Farbe weißer Greisenhaare wird mit Rücksicht auf ihren minimalen Pigmentgehalt von Wasserstoffsuperoxyd nicht beeinflußt;

4. die Färbekraft des aus den dunklen Haaren gewonnenen Pigments ist gering, das colorimetrische Verhältnis der pigmentreichsten schwarzen Haare zu den pigmentärmsten Haaren beträgt 30:1.

II. Der durch Formol titrierbare Aminosäurestickstoff in den Blutkörperchen und im Serum des Blutes von hungernden und ernährten Tieren.

Von

A. Costantino.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 7. August 1913.)

Aus einigen von mir früher ausgeführten Versuchen[1]) ergab sich die interessante Tatsache, daß die Blutkörperchen Aminosäuren enthalten, und zwar in größerer Quantität als das Serum.

Es ergab sich daraus die Fragestellung, wie die Verteilung der Aminosäuren zwischen Blutkörperchen und Serum des Blutes bei hungernden und ernährten Tieren war; hierauf beziehen sich die folgenden Versuche. Um den Resultaten größere Beweiskraft zu geben, hielt ich es für angezeigt, mehrere Mittel anzuwenden, um die Proteinsubstanzen zu entfernen. Ich habe drei verschiedene Wege zur Extraktion der Aminosäuren eingeschlagen.

Methode.

Ich erwähne kurz die verschiedenen Methoden der Extraktion der Aminosäuren:

1. Trocknung des Serums, des Blutes, des Blutkörperchenbreies bei ca. 70° (Extraktion der Pulver mit wässerigem Alkohol [Alkohol von 10%] in Gegenwart von Bariumsalzen). Ich erwähne nur, daß diese Methode, die ausgezeichnete Dienste für die Gewebe und das Serum liefert, beim Blut und den Blutkörperchen des öfteren Schwierigkeiten bietet, indem sie keine schnelle und saubere Trennung der Proteine herbeiführt. Die in einer früheren Arbeit wiedergegebenen Werte beziehen sich auf ausgezeichnet gelungene Trennungen der Proteine, da die Extrakte niedrige Werte des Gesamtstickstoffs darstellen. Zum Beispiel betrug der Gesamtstickstoff des mit dieser Methode erhaltenen Extraktes in dem ersten Experiment dieser meiner Arbeit 65 mg pro 100 ccm Blut.

[1]) A. Costantino, diese Zeitschr. **51**, 91, 1913.

2. Extraktion des frischen, soeben dem Tiere entnommenen Materiales mittels einer wässerigen angesäuerten Sublimatlösung. (Über die Details der Methode wird in einer folgenden Arbeit berichtet werden.)

3. Extraktion des frischen Materiales mit 95%gem Alkohol. Auf einen Teil Serum oder Blut kommen 10 Teile Alkohol. Dieser Weg wurde von Slyke und Meyer[1]) in Versuchen über die Aminosäuren des Blutes eingeschlagen. Ich erwähne nur, daß die im alkoholischen Extrakt enthaltenen fettähnlichen Substanzen mit Äther entfernt wurden.

Zur Bestimmung der Aminosäuren wurde die Formolmethode von Sörensen benutzt. Die erhaltenen Werte schließen nicht den Ammoniakstickstoff ein. Derselbe wurde mittels Magnesiumoxyd im Vakuum bei 45° entfernt.

Zu den Bestimmungen wurde das Blut von Hunden benutzt. Es wurden Blut und Serum analysiert; in einem Falle auch der Blutkörperchenbrei und die Lymphe.

Analytische Belege.

1. Hundeblut (Arteria carotis).

Das Tier hungerte seit 6 Tagen und wurde dann mit Fleisch und Fleischbrühe gefüttert. Blutentnahme 5 Stunden nach der Fütterung. Gewicht des Tieres ♂ 16 kg.

Extraktionsmethode Nr. 1.

	Wasser	Fettstoffe	Gesamt-N	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N		
				Trockensubstanz analysiert	$\frac{NaOH}{5}$ verbraucht	100 Gewichtsteile Aminosäuren-N enthalten
	100 g	100 g	100 g	g	ccm	mg
Blut . . .	78,41	21,59	—	27,45	2,3	8,7
Serum . .	94,07	5,93	0,772	11,81	1,3	2,7

2. Hundeblut.

Seit 24 Stunden hungerndes Tier wird mit 1 kg Fleisch gefüttert. Blutprobe 5 Stunden nach der Fütterung entnommen. Gewicht des Tieres ♂ 17 kg.

Extraktionsmethode Nr. 2.

	Menge der angewandten Substanz	Verbrauchte ccm $\frac{NaOH}{5}$	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz
	ccm		mg
Blut der Carotis	100	1,8	7,2
Serum „ „	100	1,2	5,0
Blut „ A. femoralis . . .	50	0,9	7,6
Serum „ „ „ . . .	99	1,3	4,9

[1]) D. van Slyke u. E. M. Meyer, Journ. of Biolog. Chem. 12, 398, 1912.

Unter Anwendung der Extraktionsmethode Nr. 2 erhält man als Wert für den Blutkörperchenbrei des Blutes der Carotis (bei 70° getrocknet) 9,1 mg, berechnet auf 100 g frische Blutkörperchen.

3. Hundeblut.

Seit 24 Stunden hungerndes Tier wird mit 1 kg Fleisch genährt. Blutprobe 5 Stunden nach der Fütterung entnommen. Gewicht des Tieres ♀ 8,3 kg.

Extraktionsmethode Nr. 3.

	Menge der angewandten Substanz ccm	Verbrauchte ccm $\frac{NaOH}{5}$	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz mg
Blut der Carotis	50	0,8	6,4
Serum „ „	50	0,6	4,8

4. Hundeblut.

Seit 24 Stunden hungerndes Tier wird mit 1 kg Fleisch gefüttert. Blutentnahme 5 Stunden nach der Fütterung. Gewicht des Tieres 25 kg.

Extraktionsmethode Nr. 2.

	Menge der angewandten Substanz ccm	Verbrauchte ccm $\frac{NaOH}{5}$	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz mg
Blut der A. femoralis . . .	100	1,4	5,9
„ „ „ „ . . .	100	1,3	6,1
Serum „ „ „ . . .	100	0,7	3,4
Lymphe aus Ductus thoracicus 7 Std. nach Fütterung . .	40	0,7	5,3

5. Hundeblut.

Seit 24 Stunden hungerndes Tier wird mit 1 kg Fleisch gefüttert. Blutentnahme 5 Stunden nach der Fütterung. Gewicht des Tieres 16 kg.

Extraktionsmethode Nr. 1.

	Wasser %	Feste Stoffe %	Menge der angewandten Substanz ccm	Verbrauchte ccm $\frac{NaOH}{5}$	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der frischen Substanz in mg
Blutkörperchen der Vena mesenterica	66,27	33,73	21,6	2,0	10,9
Blutkörperchen der A. femoralis	66,94	33,06	20,7	1,9	10,7
Serum der V. mesenterica	99,11	8,89	5,0	0,6	3,2
„ „ V. cava . . .	91,90	8,10	26,0	1,4	3,5

6. Hundeblut.
24 Stunden hungerndes Tier. Gewicht 21,5 kg.
Extraktionsmethode Nr. 2.

	Menge der angewandten Substanz ccm	Verbrauchte ccm $\frac{NaOH}{5}$	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz mg
Blut der Carotis	100	1,2	5,1
Serum „ „	100	1,0	4,4

7. Hundeblut.
24 Stunden hungerndes Tier. Gewicht 18 kg.
Extraktionsmethode Nr. 2.

	Menge der angewandten Substanz ccm	Verbrauchte ccm $\frac{NaOH}{5}$	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz mg
Blut der A. femoralis . . .	100	1,2	5,2
Serum „ „ „ . . .	68	1,0	4,4

Eine Zusammenstellung der Resultate der verschiedenen Experimente ergibt:

Nüchtern gehaltene Hunde		Gefütterte Hunde		
	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz in mg			Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in % der Substanz in mg
Blut A. carotis . . .	5,1	I.	Blut A. carotis	8,7
Serum A. carotis . .	4,4		Serum A. carotis	2,7
Blut A. femoralis . .	5,2	II.	Blut A. carotis	7,2
Serum A. femoralis .	4,4		„ „ femoralis	7,6
			Serum A. carotis	5,0
			„ „ femoralis . . .	4,9
			Blutkörperchen A. carotis	9,1
		III.	Blut A. carotis	6,4
			Serum A. carotis	4,8
		IV.	Blut A. femoralis	5,9
			„ „ „	6,1
			Serum A. femoralis . . .	3,4
			Lymphe	5,3
		V.	Blutkörperch. V. mesenter.	10,9
			„ A. femoralis	10,7
			Serum V. mesenterica . .	3,2
			„ V. cava	3,5

Schlußfolgerungen.

1. Die Gegenwart von Aminosäuren im Serum und in den Blutkörperchen ist durch die drei von mir gewählten Untersuchungsmethoden vollständig sichergestellt.

2. Das Blut von Hunden, die sich auf dem Höhepunkt der Verdauung befinden, hat, wie dies auch Slyke und Meyer beobachteten, einen höheren Aminosäuregehalt als das Blut hungernder Tiere erreicht. (In einigen Fällen erscheinen die Unterschiede sehr geringfügig, was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, daß nicht auch gleichzeitig das Blut des gleichen Tieres vor der Fütterung analysiert wurde, zumal man weiß, daß der Aminosäurestickstoffgehalt des Blutes hungernder Hunde zwischen 3,4 bis 5,2 mg schwankt [Slyke und Meyer]. Andererseits ließe sich diese Erscheinung möglicherweise auch durch Änderung des Verhältnisses zwischen Serum und Blutkörperchen während des Hungers und während der Ernährung erklären.)

3. Das Blutserum von Hunden in voller Verdauung zeigt in bezug auf seinen Aminosäuregehalt kaum einen oder keinen Unterschied von demjenigen hungernder Tiere.

Hieraus folgt, daß die im Blute erfolgende Vermehrung der Aminosäuren in den Blutkörperchen stattfindet, und daß letztere für die Aminosäuren permeabel sind.

4. Der Gehalt an Aminosäuren im Serum und in den Blutkörperchen ist nahezu identisch in allen Teilen des Blutkreislaufes, sowohl bei hungernden als bei ernährten Hunden.

Diese Tatsache wurde bereits früher von Folin und Denis in bezug auf den Nichtproteinstickstoff und von Slyke und Meyer hinsichtlich der Aminosäuren des Blutes in toto bei den Säugetieren konstatiert. Mit dieser Tatsache wird die Hypothese hinfällig, der zufolge die Aminosäuren durch die Darmwand desamidiert werden.

5. Die Lymphe zeigt einen geringen Gehalt an durch Formol titrierbarem Aminosäurestickstoff.

Nach einem Blick auf die ausführlichen Experimente über nüchtern gehaltene und genährte Tiere stellen wir den Unterschied fest zwischen dem Serum und den Blutkörperchen des

Blutes von Hunden, den ich gefunden habe bei anderen von mir angestellten Versuchen: 46,7 ccm für die Blutkörperchen und 53,3 ccm für das Serum in Prozent vom Blute nach dem Verhältnis:

a) Während des Hungers zeigen die Blutkörperchen einen sehr wenig höheren Aminosäuregehalt als das Plasma, indem die Werte (in Milligramm) des durch Formol titrierbaren Aminosäure-N in Prozent des Aminosäure-N des Blutes für das Serum 45,8, für die Blutkörperchen 54,16 betragen.

b) Während der Verdauung ist der Aminosäuregehalt der Blutkörperchen um vieles höher als derjenige des Plasmas. Betrachtet man z. B. Experiment Nr. 2, das als Mittel der verschiedenen Versuche angesehen werden darf, so zeigt sich, daß der obengenannte Wert für die Blutkörperchen ungefähr das Doppelte desjenigen des Plasmas beträgt, indem die Werte (in Milligramm) des durch Formol titrierbaren Aminosäure-N in Prozent des Aminosäure-N des Blutes für die Blutkörperchen 64,37, für das Serum 35,15 sind.

Legt man Experiment Nr. 2 zugrunde, so kann man sagen, daß 1000 ccm Blutkörperchenbrei (das ist etwa der Betrag, der sich gewöhnlich bei Hunden von 25 bis 30 kg Gewicht findet) während der Verdauungsperiode des Tieres 45 mg Aminosäurestickstoff fixieren.

Vereinigt man meine Ergebnisse mit denen von Slyke und Meyer[1]) sowie mit denen von Folin und Denis[2]), die wegen des Nichtproteinstickstoffs Interesse haben, in einer Tabelle, so ergibt sich umstehendes (S. 408).

Aus der Tabelle folgt, daß während der Ernährung eine Zunahme des Nichtproteinstickstoffs im Blute stattfindet, und zwar in unserem und in dem von Slyke und Meyer studierten Falle eine Zunahme speziell des Aminosäurestickstoffs, welch letzterer, wie meine Experimente gezeigt haben, ausschließlich auf die Blutkörperchen zu beziehen ist.

So erklärt sich, weshalb Abderhalden[3]), als er mit dem Reagens von Siegfried und Ruhemann (Triketohydrinden-

[1]) l. c.

[2]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. 11, 87, 161, 1912; 12, 141, 252, 259, 1912.

[3]) E. Abderhalden und E. Lampe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 81, 473, 1912.

Der Nichtproteinstickstoff im Blute hungernder und ernährter Tiere.

A. Costantino			Van Slyke und Meyer			Folin und Denis		
Hund			Hund			Katze		
Bedingungen	Quelle	Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N % in mg	Bedingungen	Quelle	Aminosäuren-N % in mg	Bedingungen	Quelle	Total-N weniger Protein-Harnstoff-N % in mg
Hungernd	Blut A. femoralis	5,2	Hungernd (äußerste Werte)	Blut A. femoralis .	3,7—5,2		Blut:	
	Serum „	4,4		„ A. carotis . .	3,1—5,4		V. porta vor der Injektion . . .	12
	Blut A. carotis	5,1		Blut:		Injektion von Glykokoll in Verdauungsgang	A. carotis 6 Min. nach Injektion .	15
	Serum „	4,4		A. femoralis vor dem Füttern . .	3,7		V. porta 45 Min. nach Injektion .	64
1 kg Fleisch	Blut[1]) A. carotis	9,8	1 kg Fleisch	V. mesenter. nach Fütterung . . .	9,5		A. carotis 45 Min. nach Injektion .	36
	Serum „	2,7		A. femoralis nach Fütterung . . .	8,6			
do.	Blut[1]) A. carotis	10,5		Blut:			Blut:	
	Serum „	4,2		A. femoralis vor Fütterung . . .	5,2		V. porta vor Injektion	16
do.	Blut A. carotis	8,7		V. mesenter. nach Fütterung . . .	10,2	Injektion des pankreatischen Verdauungsgemisches	A. carotis vor Injektion	14
	Serum „	2,7		A. femoralis nach Fütterung . . .	9,9		V. porta 63 Min. nach Injektion .	26
do.	Blut A. carotis	7,2	do.				A. carotis 60 Min. nach Injektion .	32
	Blut A. femoralis	7,6						
	Serum A. carotis	5,0						
	Serum A. femoralis	4,9						
do.	Blut A. carotis	6,4						
	Serum „	4,8						
do.	Blut A. femoralis	6,0						
	Serum „	3,4						
do.	Blutkörperchen V. mesenterica .	10,9	Injektion von Alanin in den Verdauungsgang	Blut: A. femoralis vor Injektion . . .	4,0			
	Blutkörperchen A. femoralis . .	10,7		V. mesenterica vor Injektion . . .	3,9			
	Serum V. mesenter.	3,2		V. mesenter. nach Injektion . . .	6,3			
	„ V. cava . .	3,5						

[1]) Vgl. A. Costantino, diese Zeitschr. **51**, 91, 1913.

hydrat) natürliche Aminosäuren allein im Serum von mit Fleisch und Witte-Pepton ernährten Hunden suchte, eine wenig deutliche Reaktion fand, während nach Einführung großer Mengen Aminosäuren die Reaktion sehr stark wurde. In dem letzteren Falle sind die physiologischen Bedingungen überschritten infolge der größeren Konzentration der Aminosäuren im Darm, und dies war der Grund, weshalb er im Serum die Gegenwart von Aminosäuren oder, wie er präziser sagt, von Nichtproteinsubstanzen, die Stickstoff in Bindung vom Charakter der Aminosäuren haben (d. h. NH_2 in α-Stellung), feststellen konnte.

Folgerungen.

Es ergeben sich zwei Fragestellungen bei der Interpretation der beobachteten Tatsachen:

Vor allem kann man fragen, ob die in den Blutkörperchen während der Ernährung beobachtete Vermehrung der Aminosäuren einem speziellen Stoffwechsel der Blutkörperchen zuzuschreiben ist.

Bewahrheiten sich diese Tatsachen, so müßte man aus guten Gründen erwarten, daß diese in den Blutkörperchen beobachtete Vermehrung der Aminosäuren sich auch in den Geweben während der Ernährung konstatieren lassen sollte. Faktisch zeigen die Versuche von Folin und Denis[1]) eine solche Vermehrung des Nichtproteinstickstoffs in dem Muskelgewebe während der Ernährung. Es müßte deshalb das Plasma das Vehikel für die Aminosäuren sein, und die Geschwindigkeit, mit der die Aminosäuren in die Gewebe und die Blutkörperchen übertreten, wäre so groß, daß man im Plasma unter physiologischen Bedingungen keine Variationen in bezug auf den Aminosäuregehalt zwischen hungernden und verdauenden Tieren feststellen kann.

Für einen eigenen Stoffwechsel würde die von mir beobachtete Tatsache sprechen, daß nämlich die kernhaltigen Blutzellen des Truthahns, die als wirkliche Zellen anzusehen sind, einen viel höheren Aminosäuregehalt (Formoltitration) besitzen als die kernlosen Blutkörperchen der Säugetiere.

Das Fortbestehen dieses Stickstoffgehalts während des Hungers und der ebenfalls hoch bleibende Wert während der Verdauung

[1]) l. c.

im gesamten Blutkreislauf würde ein weiteres Indizium abgeben für das Bestehen eines eigenen Stoffwechsels der Blutkörperchen. Würde man auf der anderen Seite den Blutkörperchen insgesamt einen nur untergeordneten Stoffwechsel zuschreiben, wie man das für die roten Blutkörperchen vermuten darf, so stehen wir vor der anderen Frage, ob man den Blutkörperchen und zwar welchen, die Aufgabe zuschreiben soll, die Aminosäuren den Geweben zuzutragen. Man könnte vermuten, daß beide Funktionen, nämlich die der Assimilation und die des Transportes, in den Blutkörperchen während der Verdauung vor sich gehen.

III. Die Permeabilität der Blutkörperchen für Aminosäuren.

Von

A. Costantino.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 7. August 1913.)

In der Literatur findet man des öfteren bestätigt, daß die Blutkörperchen für Aminosäuren ebenso impermeabel sind wie für die fixen Alkalien. Eine Andeutung dafür, daß dieselben dennoch möglicherweise permeabel seien, finden wir in einer Arbeit von Hedin[1]), in der wir jedoch einen Beweis vermissen. Er sagt, „daß die Aminosäuren, wie die fixen Alkalisalze, möglicherweise in geringer Menge in die Blutkörperchen eindringen, aber doch hauptsächlich im Plasma bleiben", und an anderer Stelle: „auf Grund der angeführten Zahlen können wir aber nicht entscheiden, ob die Salze (fixe Alkalisalze) von den Blutkörperchen gar nicht oder nur in sehr kleiner Menge aufgenommen werden".

Die Frage, ob die Blutkörperchen permeabel oder impermeabel für die Aminosäuren sind, ist demnach noch eine offene. Obwohl dieselben durch eine meiner früheren Arbeiten über den Gehalt der Blutkörperchen an Aminosäuren bei hungernden und ernährten Tieren gewissermaßen schon beantwortet ist, war dennoch eine direkte Beweisführung mittels spezieller Aminosäuren in vitro erwünscht.

Die Formolmethode von Sörensen hat sich am geeignetsten für ein derartiges Studium erwiesen. In den im Folgenden wiedergegebenen Versuchen habe ich mich bemüht, so viel als möglich die physiologischen Bedingungen einzuhalten, indem ich

[1]) S. G. Hedin, Arch. f. d. ges. Physiol. 68, 229, 1897.

mit dem den Tieren entnommenen Blute arbeitete, ohne letzteres in bezug auf das gegenseitige Verhältnis seiner Komponenten durch Zufügung oder Wegnahme von Flüssigkeit zu verändern.

Die verschiedenen, die Permeabilität der Blutkörperchen betreffenden Operationen wurden alle am gleichen Tage, an dem das Blut im Schlachthause gesammelt worden war, ausgeführt und nahmen nie mehr als insgesamt 6 Stunden in Anspruch.

Methodik.

Das Blut wurde im Schlachthause in trockenen Gläsern aufgefangen und durch eine 4 fache Lage von Gaze filtriert. In jedes der 4 Gläser einer großen Zentrifuge wurden je 100 ccm Blut gegeben (sie seien mit A bezeichnet) während andere 4 Gläser eine nicht gemessene Menge Blut (mit B bezeichnet) enthielten.

Es wurde 1 Stunde lang zentrifugiert (4000 Umdrehungen pro Min.). Von den Gläsern B wurde Serum und Blutkörperchen analysiert, um deren ursprünglichen Gehalt an Aminosäuren zu bestimmen. Es wurde besonders darauf geachtet, das Serum so vollständig als möglich von den Blutkörperchen zu trennen und ebenso die Schicht der Leukocyten auf dem Blutkörperchenbrei.

Von jedem der Gläser (A) wurden 25 ccm Serum in einen kleinen Kolben abpipettiert und 25 ccm des Serums aus den Gläsern (B) hinzugefügt. In dieser Menge Serum (125 ccm) wurde eine bestimmte Menge einer Aminosäure gelöst. Nachdem vollständige Lösung erfolgt war, wurde in jedes der Gläser (A) die vorher entnommenen 25 ccm Serum wieder zurückgegeben. Die Blutkörperchen und das Serum wurden nun vorsichtig gemischt und 1 Stunde lang stehen gelassen und dabei mit Glasplatten bedeckt.

In dem kleinen Kolben verblieben 25 ccm Serum, die analysiert wurden, um daraus genau die Menge Aminosäurestickstoff zu bestimmen, die zu 400 ccm Blut zugefügt worden war. Es ward Sorge getragen, ehe die Analyse begonnen wurde, zu den im Kolben verbliebenen 25 ccm andere 25 ccm des Serums der Gläser (B) zu fügen, um unter möglichst denselben Bedingungen zu arbeiten wie bei den analysierten Serumproben.

Das in den Gläsern (A) enthaltene Blut wurde nach einer Pause von 1 Stunde (Temperatur 20°) gut geschüttelt und eine Probe davon zur Bestimmung des Verhältnisses zwischen Serum und Blutkörperchen benutzt. Zu diesem Zwecke diente der Hämatokrit, und zwar wurde bis zu konstantem Volumen zentrifugiert.

Das Blut in den Gläsern (A) wurde sodann 1 Stunde lang zentrifugiert und Serum und Blutkörperchen getrennt analysiert.

In dieser Weise resultierten sämtliche zu den vorliegenden Studien notwendigen Daten. Die Analysen wurden in exakter Weise am Serum

ausgeführt, und als Kontrolle dienten die aus der Analyse des Blutkörperchenbreies erhaltenen Daten, von dem das Serum so vollständig als möglich entfernt worden war.

Die Eiweißkörper wurden mittels angesäuerter Sublimatlösung[1]) entfernt. Nur im ersten Experiment wurde zur Fällung der Proteide 95%iger Alkohol benutzt und nur die Blutkörperchenmasse analysiert.

I. Experiment.

Defibriniertes Ochsenblut. Extraktionsmethode Alkohol (95%). (Ein Teil Blut oder Serum auf 10 Teile Alkohol.) Zugefügte Aminosäure: Alanin.

1. Analyse des Blutkörperchenbreies, erhalten durch 1 stündiges Zentrifugieren des Blutes.

Substanz	Benutzte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg %
Blutkörperchen	100 ccm	0,8	3,2

2. Analyse des Blutkörperchenbreis nach Zufügung von Alanin (45 mg durch Formol titrierbarer Alaninstickstoff hinzugefügt zu 400 ccm Blut) zu dem Blut.

Substanz	Benutzte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N (formoltitrierbar) in mg %
Blutkörperchen	100 ccm	1,4	7,6

II. Experiment.

Defibriniertes Ochsenblut. Extraktionsmethode der Aminosäuren: Sublimat in saurer Lösung.

Zugefügte Aminosäure: Asparagin (Kahlbaum).

1. Beziehung zwischen Serum und Blutkörperchen in 100 ccm Blut: (Hämatokrit) 40 ccm Blutkörperchen: 60 ccm Serum.

2. Analyse der Blutkörperchen und des Serums erhalten durch 1 stündiges Zentrifugieren des defibrinierten Blutes.

Substanz	Benutzte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N (formoltitrierbar) in mg %
Blutkörperchen	100 ccm	1,1	5,2
Serum	100 ccm	0,8	3,3

[1]) A. Costantino, diese Zeitschr. 51, 91, 1913.

3. Analyse des durch Formol titrierbaren Asparaginsäure-N zugefügt zu 125 ccm Serum (A).

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg	
			N der ursprünglich vorhandenen Aminos.+Asparagin-N in 50 ccm	Asparagins.-N in 25 ccm Serum (A)
Serum	25 ccm Normalserum + 25 ccm Serum A	2,3	11	9,4

4. Analyse der Blutkörperchen und des Serums nach Zufügung von $9{,}4 \times 4 = 37{,}6$ mg durch Formol titrierbaren Asparagins.-N, entstammend 100 ccm Serum (A) zu 400 ccm Blut.

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg	
			N der ursprünglich vorhandenen Aminos.+Asparagins.-N	Asparaginsäure-N
Serum	50 ccm	1,8	(in 50 ccm) 7,5	(in 50 ccm) 5,9
Blutkörperchen	100 ccm	1,9	(in 100 ccm) 10,5	(in 100 ccm) 5,3

Aus diesen experimentellen Daten folgt:

Asparaginsäure-N (durch Formol titrierbar) in mg		Aminosäure-N (durch Formol titrierbar) in 160 ccm Blutkörperchenbrei, entstammend 400 ccm Blut, in mg	
hinzugefügt zu 400 ccm Blut	gefunden in 240 ccm Serum, enthalten in 400 ccm Blut	ursprünglich vorhanden	gefunden nach Zufügung v. Asparaginsäure zum Blut
37,6 I	28,2 II	8,3 III	16,8 IV
Diff. zwischen I und II: 9,4		Diff. zwischen IV und III: 8,5	

In deutlicher Weise sieht man, daß das Asparagin in die Blutkörperchen eindringt, indem sich der normale Aminosäure-N-Wert verdoppelt. Der größere Teil des Asparagins bleibt jedoch im Serum.

III. Experiment.

Defibriniertes Ochsenblut. Extraktionsmethode der Aminosäuren: Sublimat in saurer Lösung.

Zugesetzte Aminosäure: A. Aminosäure-Gemenge erhalten durch Hydrolyse (H_2SO_4) von Casein. Die zur Hydrolyse benutzte Säure wurde genau durch Baryt ausgefällt.

B. Glykokoll (Kahlbaum).

1. Verhältnis zwischen Serum und Blutkörperchen in 100 ccm Blut (Hämatokrit):

I. 31,17 } 31,01 ccm Blutkörperchen; 68,83 } 68,99 ccm Serum.
II. 30,85 } 69,15 }

2. Analyse der Blutkörperchen und des Serums, erhalten durch 1 stündiges Zentrifugieren des defibrinierten Blutes:

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg %
Blutkörperchen . .	100 ccm	1,0	5
Serum	100 ccm	0,8	3

A.

I. Analyse der zu 125 ccm Serum (R) zugefügten Aminosäure-N-Menge:

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH_2)}{5}$	Aminosäure-N in mg	
			N der ursprünglichen + der zugefügten Aminosäuren in 50 ccm	N der zugefügten Aminosäure in 25 ccm Serum (R)
Serum	25 ccm Normalserum + 25 ccm Serum A	2,6	11,5	10

II. Analyse von Blutkörperchen und Serum nach Zusatz von $10 \times 4 = 40$ mg durch Formol titrierbaren Aminosäure-N, herrührend von 100 ccm Serum (R) zu 400 ccm Blut:

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N (formoltitrierbar) in mg	
			N der ursprünglichen + der zugefügten Aminosäuren	N der zugefügten Aminosäure
Serum	50 ccm	1,8	(in 50 ccm) 7,7	(in 50 ccm) 6,2
Blutkörperchen.	90 ccm	1,6	(in 100 ccm) 9,0	(in 100 ccm) 4,0

Aus diesen experimentellen Daten ergibt sich:

Aminosäure-N (formoltitrierbar), von der Hydrolyse des Caseins stammend, in mg		Aminosäure-N (formoltitrierbar) in 204 ccm Blutkörperchen, aus 400 ccm Blut stammend, in mg	
zugesetzt zu 400 ccm Blut	gefunden in 275,9 ccm Serum, enthalten in 400 ccm Blut	ursprünglich vorhanden	gefunden nach Zufügung der Aminosäure aus d. Hydrolyse des Caseins
40	34,2	6,2	11,2
I	II	III	IV
Diff. zwischen I und II: 5,7		Diff. zwischen IV und III: 5,0	

Auch in diesem Falle zeigt sich in den Blutkörperchen ein Zuwachs an Aminosäurestickstoff um ca. das Doppelte. Da das analysierte Blut arm an Blutkörperchen (31,01% des Blutes) und die angewandte Blutmenge nicht besonders groß war, so ergaben sich keine großen Differenzen.

B.

I. Analyse des durch Formol titrierbaren Glykokollstickstoffs, zugesetzt zu 125 ccm Serum (R):

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N (formoltitrierbar) in mg	
			N der ursprünglichen + der zugefügten Aminosäuren in 50 ccm	N des Glykokolls in 25 ccm Serum (R)
Serum	25 ccm Normalserum + 25 ccm Serum (R)	3,3	17,6	16,1

II. Analyse der Blutkörperchen und des Serums nach Zusatz von $16{,}1 \times 4 = 64{,}4$ mg durch Formol titrierbaren Glykokoll-N, stammend aus 100 ccm Serum (R), zu 400 ccm Blut (R).

Substanz	Angewandte Menge	Verbrauchte ccm $\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N (formoltitrierbar) in mg	
			N der ursprünglich vorhandenen + zugefügten Aminosäuren	N des Glykokolls
Serum	50 ccm	2,3	(in 50 ccm) 11,9	(in 50 ccm) 10,4
Blutkörperchen .	89 ccm	1,6	(in 100 ccm) 9,2	(in 100 ccm) 4,2

Aus diesen experimentellen Daten ergibt sich:

N des Glykokolls (formoltitrierbar) in mg		Aminosäure-N (formoltitrierbar) in 124 ccm Blutkörperchen, stammend aus 400 ccm Blut, in mg	
zugefügt zu 400 ccm Blut	gefunden in 275,9 ccm Serum aus 400 ccm Blut	ursprünglich vorhanden	gefunden nach Zusatz des Glykokolls
64,4 I	57,3 II	6,2 III	11,4 IV
Diff. zwischen I und II: 7,1		Diff. zwischen IV und III: 5,2	

Auch in diesem Falle ergibt sich eine Vermehrung des Aminosäurestickstoffs in den Blutkörperchen, wenn auch nicht so erheblich, und zwar aus den obenerwähnten Gründen.

Die erhaltenen Werte zeigen in bezug auf die aus den Serumwerten berechneten Zahlen und den durch direkte Analyse der Blutkörperchen erhaltenen Zahlen eine nicht ganz vollständige Übereinstimmung. Die in den Blutkörperchen nachgewiesene Vermehrung ist stets um ein weniges niedriger als die im Serum konstatierte Abnahme. Dieses Faktum gilt besonders vom Glykokoll.

Ich beabsichtige, den Gründen hierfür in späteren Arbeiten nachzugehen.

Schlußfolgerungen.

Es wurde der Beweis erbracht, daß die Blutkörperchen für Aminosäuren permeabel sind.

Es folgt aus den experimentellen Daten:

1. daß man unter den durch die Versuchsanordnung gegebenen Bedingungen nicht über eine bestimmte Grenze in bezug auf die Permeabilität der Blutkörperchen für Aminosäuren gehen kann;

2. daß sich kein erheblicher Unterschied hinsichtlich der Affinität der Blutkörperchen für gewisse Aminosäuren konstatieren läßt. Vergleicht man z. B. die Zunahme des durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoffs pro 1000 ccm Blutkörperchen, so ergibt sich für:

Asparagin	Gemisch der Aminosäuren der Caseinhydrolyse	Glykokoll[1])
55 mg	44 mg	41,9 mg.

3. Der Maximalwert für die Permeabilität der Blutkörperchen für Aminosäuren, wie er in vitro bestimmt wurde, nähert

[1]) Der berechnete Wert basiert auf der in den Blutkörperchen beobachteten Vermehrung des Aminosäurestickstoffs.

sich außerordentlich dem mittleren für die Permeabilität der Blutkörperchen bei in voller Verdauung begriffenen Hunden gefundenen Werte. So betrug der Wert für die bei verdauenden Hunden bestimmte Permeabilität der Blutkörperchen für den durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoff pro 1000 ccm (Blutkörperchen) ca. 45 mg.

Diese Tatsachen führen zu einer immer wiederholten Bestätigung der Ansicht, daß die während der Ernährung beobachtete Vermehrung des Aminosäurestickstoffs im Blute ausschließlich auf diese zurückzuführen ist, und daß diese Vermehrung unter den physiologischen Bedingungen der Ernährung sich ausschließlich nur in den Blutkörperchen nachweisen läßt. Arbeitet man mit dem Blutkörperchenbrei, von dem man die sich beim Zentrifugieren auf der Oberfläche bildende Schicht von weißen Blutkörperchen abgehoben hatte, so läßt sich feststellen, daß die beobachtete Permeabilität den roten Blutkörperchen zuzuschreiben ist.

Methodik der Extraktion von Aminosäuren aus den verschiedenen Bestandteilen des Blutes.

Von

A. Costantino.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 7. August 1913.)

Da ich mich in früheren Arbeiten mit der Verteilung der Aminosäuren auf Serum und Blutkörperchen bei verschiedenen Tieren, und zwar bei hungernden und in Verdauung begriffenen Tieren, beschäftigt habe, hatte ich Gelegenheit, die Extraktion der Aminosäuren aus den verschiedenen Teilen des Blutes zu erproben.

Wie bekannt, ist eine der wichtigsten Fragen bei der Bestimmung des Aminosäurestickstoffs nach der Methode von Sörensen oder der Methode mit salpetriger Säure, die ausgedehnte Anwendung von Slyke und Meyer erfahren hat, die vollständige Entfernung der Proteine, Albumosen, Peptone und Polypeptide aus den zu untersuchenden Flüssigkeiten, und zwar wegen der mitunter nicht zu vernachlässigenden Fehler, die bei Anwendung der erwähnten Methoden entstehen können. Eine andere Bedingung ist, die zu untersuchenden Substanzen nicht mit in die zu entfernenden Proteine hineinzubringen.

Am meisten wäre bei diesen Studien zu wünschen, daß sich ausschließlich die eigentlichen Proteine entfernen ließen, um in den Extrakten einmal den den Peptonen, Albumosen und Polypeptiden entsprechenden Stickstoff, das andere Mal den nur auf die Aminosäuren zu beziehenden Stickstoff zu bestimmen.

Alle bisherigen zur Extraktion des Nichtproteinstickstoffs benutzten Verfahren können nicht für die angedeuteten Zwecke

benutzt werden. Die Extrakte enthalten je nach der benutzten Methode verschieden große Mengen von Eiweißspaltungsprodukten, die je nach der angewandten Extraktionsweise schwanken. Daraus folgt, daß man bei Anwendung der Formolmethode von Sörensen zur Titration des Aminosäurestickstoffs in manchen Fällen Gefahr läuft, gleichzeitig auch einen Teil desjenigen Stickstoffs zu bestimmen, der sich in Bindung vom Charakter der Aminosäuren befindet, wie man sie bei Peptonen und Polypeptiden findet, und die, wie die Versuche von H. Schiff, Obermayer und Willheim, Kossel und N. Gawrilow gezeigt haben, auch bei verschiedenen Eiweißkörpern vorkommen können.

Nichtsdestoweniger haben wir für die besonderen Untersuchungen über die Aminosäuren in den Geweben und Flüssigkeiten des Organismus eine gut anwendbare Extraktionsmethode, was daraus folgt, daß die erhaltenen Extrakte, abgesehen davon, daß sie arm an Gesamtstickstoff sind, so gut wie identische Aminosäurestickstoffwerte liefern, gleichgültig ob die Bestimmung des Aminosäurestickstoffs vor oder nach der Hydrolyse mit Säuren des Extraktes vorgenommen wird[1]).

Die verschiedenen Extraktionsverfahren, die bislang zur Bestimmung der Aminosäuren im Blute nach der Methode von Sörensen und der von Slyke und Meyer im Gebrauch sind, lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Metaphosphorsäure. Wurde benutzt von H. Delaunay[2]) bei Versuchen über den durch Formol titrierbaren Nichtproteinstickstoff im Blute mariner und terrestrer Tiere.

2. Alkohol von 95%; ein Teil Blut auf zehn Teile Alkohol. Wurde von Slyke und Meyer[3]) zur Bestimmung des Aminosäurestickstoffs des Blutes der Säugetiere in toto benutzt.

3. Entfernung der Eiweißkörper nach Trocknung bei ca. 70° und nachfolgender Extraktion der Aminosäuren mit wässe-

---

[1]) D. van Slyke und G. Meyer, Journ. of Biolog. Chem. 12, 339, 1912. — G. Buglia und A. Costantino, Zeitschr. f. phys. Chem. 82, 439, 1912.

[2]) H. Delaunay, Compt. rend. Soc. Biol. 73, 492, 1913; 74, 154, 1913.

[3]) D. van Slyke und E. M. Meyer, Journ. of Biolog. Chem. 12, 398, 1912.

rigem Alkohol (10%) in Gegenwart von Bariumsalzen. Das Verfahren wurde angewandt zur Bestimmung des Aminosäurestickstoffs nach der Formolmethode von G. Buglia und A. Costantino in den Geweben und neuerdings von A. Costantino im Blute[1]). Da ich bisher noch nicht eingehend genug die besten Bedingungen in bezug auf die zuzusetzenden Mengen Bariumsalze studiert habe, was ich jedoch nachholen will, so ist das genannte Verfahren nicht so einfach zu benutzen, wenn es sich um Untersuchungen über den durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoff im Blute handelt.

4. Entfernung der Eiweißkörper mit angesäuerter Sublimatlösung. Angewandt von Bingel[2]) zur qualitativen Aufsuchung von Aminosäuren im Blute und neuerdings von A. Costantino zu quantitativen Bestimmungen über die Verteilung des durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoffs auf Serum und Blutkörperchen im Blute. (Die für den Aminosäurestickstoff erhaltenen Werte stimmen gut mit den nach Methode Nr. 2, d. h. Entfernung der Proteine mit Alkohol, erhaltenen überein.)

In bezug auf Einfachheit, Billigkeit und Genauigkeit steht die Methode, die auf der Entfernung der Eiweißsubstanzen mit angesäuerter Sublimatlösung beruht, an erster Stelle, indem sie geringe Flüssigkeitsmengen liefert, die völlig ungefärbt sind. Ich lasse den Gang der Methode sowie die analytischen Resultate folgen, die bei der Anwendung auf Serum und Blut vom Ochsen, sei es in An- oder Abwesenheit bestimmter Mengen von Aminosäuren, erhalten worden sind.

Methodik.

100 ccm Blut oder Serum werden mit einem gemessenen (500 ccm) Volumen 2%iger Sublimatlösung, die 0,8% Salzsäure enthält, gemischt. Die Mischung wird in einem geschlossenen Kolben heftig geschüttelt und einige Stunden stehen gelassen, wobei das Schütteln zeitweise wiederholt wird. Hierauf zentrifugiert man den Brei 10 Min. lang und hebt die Flüssigkeit ab, die durch ein trocknes Filter in einen graduierten Zylinder gegossen wird. Ein bekanntes Volumen dieser Flüssigkeit wird, wie es für den Urin üblich ist, analysiert, und zwar nachdem das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt worden ist und der Schwefelwasserstoff wieder durch einen Luftstrom vertrieben wurde, die Flüssig-

[1]) A. Costantino, diese Zeitschr. **51**, 91, 1913.

[2]) A. Bingel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 382, 1908.

keit genau neutralisiert und auf dem Wasserbad oder besser bei 50° im Vakuum konzentriert und das Ammoniak durch Destillation im Vakuum bei 45° mit MgO entfernt.

Bei biologischen Versuchen, bei denen eine gegebene Blutmenge desselben Tieres mehrmals zu analysieren ist, begegnet man bei der Bestimmung der Aminosäuren ziemlichen Schwierigkeiten. Die besonders im Serum kleine, mit Formol zu bestimmende Aminosäurestickstoffmenge erfordert eine große Materialmenge. Bedenkt man außerdem, daß bei der Bestimmung der Aminosäuren nach Sörensen es immer angezeigt ist, mit $^n/_5$-Lösungen von Säure und Alkali zu operieren und nicht mit verdünnteren, so tritt eine andere nicht geringe Schwierigkeit auf bei der Analyse von nur kleinen Mengen.

In diesen Fällen empfiehlt es sich, einen Kunstgriff anzuwenden, wie er in der analytischen Chemie bei Bestimmung sehr kleiner Mengen (z. B. des Eisens in eisenarmen Mineralien oder in Geweben usw.) üblich ist; d. h. man fügt zu der zu analysierenden Probe eine bekannte Menge der gleichen zu bestimmenden Substanz, im vorliegenden Falle also eine Aminosäure. Auf diese Weise arbeitet man nicht nur unter Bedingungen, wie sie die Sörensensche Methode verlangt, sondern man ist auch in der Lage, eine Probe von 50 ccm Serum oder Blut mit der gleichen Exaktheit zu analysieren wie eine Probe von 100 und mehr Kubikzentimeter. In der Tat wird dies durch meine Versuche vollständig bestätigt.

Analytische Daten.

Der erste Versuch wird in extenso beschrieben, die anderen nur kurz wiedergegeben.

I. Defibriniertes Ochsenblut.

100 ccm Blut wurden mit 500 ccm saurer Sublimatlösung versetzt. Gesamtvolumen mithin 600 ccm. Nach dem Zentrifugieren und Filtrieren wurden 500 ccm analysiert. Diese Flüssigkeit wurde den angeführten Manipulationen unterworfen und der Ammoniakstickstoff entfernt. Das Volumen betrug nach der Konzentration im Vakuum ca. 30 ccm. Es wird jetzt festes Bariumchlorid und Bariumhydrat zugegeben und 1,5 ccm Phenolphthalein (0,5% wässerig-alkolische Lösung, enthaltend 50% Alkohol). Man filtriert und fängt die klare Flüssigkeit in einem graduierten Zylinder auf. Das Flüssigkeitsvolumen betrug 75 ccm. Manchesmal wurde es auf 100 ccm und mehr verdünnt und ein Teil davon analysiert. Dies erfolgte nach genauer Neutralisation gegen Azolitmin in der gewöhnlichen Weise.

$$\frac{Ba(OH)_2}{5} \text{ ccm } 7{,}3 - \frac{HCl}{5} \text{ ccm } 5{,}8 = \text{ccm } 1{,}5 - 0{,}2 \text{ (Korrektion der Versuchsprobe)} = 1{,}3 \times 2{,}8 = 3{,}6 \text{ mg}.$$

Die zu analysierenden 500 ccm Flüssigkeiten enthielten demnach 3,6 mg durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoff.

Da das Anfangsvolumen 600 ccm betrug, erhält man

$$500 \text{ ccm} : 3{,}6 \text{ mg} = 600 \text{ ccm} : x \text{ mg}$$

$$x = 4{,}4 \text{ mg}.$$

100 ccm Blut enthalten 4,4 mg durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoff.

II. Defibriniertes Ochsenblut.

1. Gehalt des Serums an Aminosäurestickstoff (formoltitrierbar):

Substanz	Angew. Substanz Menge	$\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg
Serum	100 ccm	0,8 ccm	3,3

2. Gehalt des Serums an Aminosäurestickstoff (formoltitrierbar) nach Zusatz von 9,3 mg Asparaginsäure-N:

Substanz	Angew. Substanz Menge	$\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg in 50 ccm
Serum	50 ccm	2,3 ccm	11

Subtrahiert man von diesen 11 mg Aminosäurestickstoff, die in 50 ccm Serum gefunden wurden, den Wert in Milligramm für den in 50 ccm Serum ursprünglich schon vorhandenen Aminosäurestickstoff, so ergibt sich

$$11 - 1{,}6 = 9{,}4 \text{ mg}.$$

Gefunden: 9,4 mg. Berechnet: 9,3 mg.

Die Extraktionsmethode ist demnach als gut zu bezeichnen.

III. Defibriniertes Ochsenblut.

1. Analyse des Serums:

Substanz	Angew. Substanz Menge	$\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg
Serum	100 ccm	0,8 ccm	3

2. Analyse des Serums nach Zusatz von 10,1 mg durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoffs, bestehend aus dem Gemenge der durch Hydrolyse (H_2SO_4) erhaltenen Aminosäuren des Caseins nach Entfernung der Schwefelsäure:

Substanz	Angew. Substanz Menge	$\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg in 50 ccm
Serum	50 ccm	2,6 ccm	11,5

Subtrahiert man von diesen 11,5 mg Aminosäurestickstoff, die in 50 ccm Serum gefunden wurden, den in 50 ccm Serum ursprünglich bereits vorhandenen Wert für den Aminosäurestickstoff in Milligramm, so erhält man:

$$11{,}5 - 1{,}5 = 10 \text{ mg}.$$

Gefunden: 10 mg. Berechnet: 10 mg.

Die Übereinstimmung ist eine vollständige.

3. Analyse des Serums nach Zusatz von 16,3 mg Glykokollstickstoff.

Substanz	Angew. Substanz Menge	$\frac{Ba(OH)_2}{5}$	Aminosäure-N in mg in 50 ccm
Serum	50 ccm	3,3 ccm	17,6

Subtrahiert man von diesen 17,6 mg die in 50 ccm Serum präexistierende Menge Aminosäurestickstoff, so erhält man:

$$17{,}6 - 1{,}5 = 16{,}1 \text{ mg}.$$

Gefunden: 16,1 mg. Berechnet 16,3 mg.

Auch in diesem Falle findet sich eine ausgezeichnete Übereinstimmung zwischen zugesetztem und gefundenem Aminosäurestickstoff.

Schlußfolgerung.

Aus den verschiedenen experimentellen Resultaten folgt, daß die Methodik leicht und sicher bei der Bestimmung der Aminosäuren im Serum und im Blut zum Ziele führt. Im übrigen bietet sie die Möglichkeit, kleinere Mengen Materials zu benutzen, nachdem zuvor eine bekannte Menge einer Aminosäure zugesetzt worden ist.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XV. Mitteilung.

Verhalten des Benzaldehyds im Tierkörper.

Von

E. Friedmann und W. Türk.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

Während Furfurol im Tierkörper nach den Versuchen von Jaffé und Cohn[1]) eine Synthese mit Essigsäure unter Bildung von Furfurakrylsäure eingeht und als Furfurakrylursäure zur Ausscheidung gelangt, ist ein ähnliches Verhalten vom Benzaldehyd nicht bekannt. An Versuchen, das Schicksal des Benzaldehyds nach dieser Richtung zu verfolgen, hat es nicht gefehlt. So hat R. Cohn[2]) im Hinblick auf die Befunde, die bei der Verfütterung von Furfurol erhoben worden sind, das Verhalten des Benzaldehyds im Tierversuch eingehend geprüft, ist jedoch zu keinem entscheidenden Resultate gekommen.

R. Cohn verabfolgt Benzaldehyd Kaninchen subcutan und Hunden per os.

In den Kaninchenversuchen wurden nach Verfütterung von Benzaldehyd aus dem Harn große Mengen von Benzoesäure und Hippursäure isoliert. Zur Prüfung, ob der ausgeschiedenen Benzoesäure Zimtsäure beigemengt war, benutzte R. Cohn die Eigenschaft der Zimtsäure, beim Erwärmen ihrer wässerigen Lösung mit Kaliumpermanganat Benzaldehyd zu bilden, der leicht am Geruch erkenntlich ist. Die Reaktion

[1]) M. Jaffé und Rud. Cohn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 2311, 1887.

[2]) Rud. Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 274, 1893.

fiel jedoch negativ aus. Die ausgeschiedene Hippursäure wurde durch Kochen mit starkem Barytwasser in Benzoesäure und Glykokoll gespalten, die Benzoesäure mit Äther extrahiert und mit Hilfe der Kaliumpermanganatreaktion auf Zimtsäure geprüft. Auch hier trat der Geruch nach Benzaldehyd nicht auf. Nur in der Mutterlauge der Benzoesäurekrystallisation wurde schwache Zimtsäurereaktion erhalten. Es erschien demnach nicht ausgeschlossen, daß der Benzoesäure geringe Mengen von Zimtsäure beigemischt waren.

Zu demselben Resultate führte ein Fütterungsversuch an einem Hunde, der, in täglichen Dosen bis zu 10 g auf drei Portionen verteilt, bei Milch- und Brotfütterung 65,8 g Benzaldehyd erhielt. Auch hier war die Zimmtsäurereaktion nur in der Mutterlauge der Benzoesäure positiv, aber es gelang nicht, die geringen Mengen, um die es sich nur handeln konnte, zu isolieren. Ebensowenig konnte in der ausgeschiedenen Hippursäure nach Spaltung mit Barytwasser Zimtsäure nachgewiesen werden.

Eine Erklärung für diese negativen Resultate glaubte R. Cohn in der Tatsache, die er durch eigene Versuche feststellte, zu sehen, daß auch die Zimtsäure im Tierkörper zum größten Teil zu Benzoesäure abgebaut und als Hippursäure ausgeschieden wird. Es schien ihm daher die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß nach Verfütterung von Benzaldehyd ein, wenn auch nur geringer Teil des Benzaldehyds, in Zimtsäure übergeführt wird, der dann weiter einer sekundären Umwandlung zu Benzoesäure anheimfällt.

Bei der prinzipiellen Wichtigkeit für das Verständnis des Auftretens von ungesättigten Säuren bei dem Abbau der höheren Phenylfettsäuren im Tierkörper schien es uns wünschenswert, von neuem die Frage zu untersuchen, ob im Tierkörper eine Synthese des Benzaldehyds mit Essigsäure zu Zimtsäure nachweisbar ist. Wir glaubten, diese Frage um so eher zur Entscheidung bringen zu können, als wir durch die Versuche von H. D. Dakin eingehend über das Schicksal der Zimtsäure im Tierkörper unterrichtet sind[1]). H. D. Dakin isolierte nach Verfütterung von Zimtsäure aus dem Harn der Versuchstiere außer Hippursäure Cinnamoylglycin, Acetophenon und l-Phenyl-β-oxypropionsäure. Wir nahmen daher die Fütterungsversuche

[1]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. **6**, 206, 1909.

mit Benzaldehyd wieder auf und prüften, ob im Harn der Versuchstiere neben Hippursäure Cynnamoylglycin und l-Phenyl-β-oxypropionsäure, deren Anwesenheit infolge der Linksdrehung ihrer wässerigen Lösung leicht nachweisbar ist, auftreten.

Wir applizierten Benzaldehyd, in Olivenöl gelöst, Hunden subcutan. Aus dem Harn der Versuchstiere konnte außer geringen Mengen von Benzoesäure nur Hippursäure isoliert werden. Die ausgeschiedene Hippursäure wurde einer wiederholten fraktionierten Krystallisation unterworfen. Sämtliche Fraktionen waren einheitlich und bestanden ausschließlich aus Hippursäure. Die wässerige Mutterlauge der Hippursäure zeigte keine Linksdrehung, so daß wir die Abwesenheit von l-Phenyl-β-oxypropionsäure nach Verfütterung von Benzaldehyd sicherstellen konnten.

Aus diesen Versuchen folgt, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen eine Synthese des Benzaldehyds mit Essigsäure zu Zimtsäure im Tierversuch nicht nachweisbar ist. Die nach Verfütterung von Phenylpropionsäure[1]) und Phenylvaleriansäure[2]) auftretende Zimtsäure kann daher mit Recht als Abbauprodukt dieser Säuren aufgefaßt werden.

Fütterungsversuche.

Der zur Verfütterung verwendete Benzaldehyd war reinster Benzaldehyd von Kahlbaum.

1. Fütterungsversuch.

Einem Hunde von 5,6 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden täglich 2 g Benzaldehyd, in 8 ccm Olivenöl gelöst, unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 10 g Benzaldehyd verabreicht.

Die gesammelten Harne der 5 Versuchstage wurden zum dünnen Sirup eingedampft und dieser 4 mal mit 92%igem Alkohol ausgezogen. Der nach Abdampfen des Alkohols erhaltene Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit 100 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und 5 mal 12 Stunden mit Äther extrahiert. Im Ätherextrakt war eine reichliche krystallinische Ausscheidung vorhanden. Nach Ab-

[1]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 4, 419, 1908.
[2]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 221, 1909.

destillieren des Äthers wurde der Rückstand in 100 ccm heißem Wasser gelöst und die Lösung 12 Stunden in dem Eisschrank zur Krystallisation aufgestellt. Der ausgeschiedene Krystallbrei wurde abgesaugt und mit wenig eiskaltem Wasser ausgewaschen (A. Krystalle, B. Mutterlauge).

A. Krystalle. Die Menge der krystallinischen Ausscheidung betrug nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure 11,9 g. Sie bestand ausschließlich aus Hippursäure. Zur Reinigung wurde die erhaltene Hippursäure in 200 ccm Wasser in der Wärme gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und filtriert. Beim Erkalten schied sich die Hippursäure in schönen, nadelförmigen Krystallen ab. Ihr Schmelzpunkt lag bei 187,5° (unkorr.). Die Mischprobe mit synthetischer Hippursäure ergab keine Depression des Schmelzpunktes.

B. Mutterlauge. Das Volumen der Mutterlauge der Hippursäurekrystallisation vor dem Auswaschen mit Eiswasser betrug 105 ccm. Im 2-dcm-Rohr polarisiert zeigte die Flüssigkeit eine Rechtsdrehung von $+0{,}1^{0}$. Die Mutterlauge wurde mit dem Waschwasser vereinigt, auf dem Wasserbade auf etwa 5 ccm eingeengt und von neuem mit Äther nach Hinzufügen von 10 ccm $25\,\%$iger Phosphorsäure im Extraktionsapparate extrahiert. Die Extraktion dauerte 30 Stunden. Am Boden des Extraktionskolbens hatten sich wenig Krystalle und etwas Sirup ausgeschieden. Die ätherische Lösung wurde von dieser Ausscheidung abgegossen und Bodensatz und ätherische Lösung getrennt verarbeitet (a Bodensatz, b ätherische Lösung).

Der Bodensatz a wurde in Wasser gelöst und die Lösung nach Filtration von einer geringen, flockigen, amorphen Ausscheidung im Polarisationsapparat untersucht. Das Volumen der Flüssigkeit betrug 30 ccm. Im 2-dcm-Rohr konnte keine Drehung beobachtet werden. Beim Einengen dieser Lösung blieb ein geringer, brauner Sirup zurück, der auch nach längerem Stehen nicht krystallisierte.

Die ätherische Lösung b wurde durch Destillation vom Äther befreit. Der Destillationsrückstand bestand aus nadelförmigen Krystallen, die von einem braunen Sirup durchsetzt waren. Er wurde mit absolutem Äther übergossen. Hierbei blieben die Krystalle ungelöst (Krystalle, absolut-ätherische Lösung).

Die Krystalle wurden abgesaugt und getrocknet; ihre Menge betrug 0,35 g, ihr Schmelzpunkt lag unscharf bei 181° (unkorr.). Zur Reinigung wurde die Krystallisation in 80 ccm Wasser gelöst und die Lösung etwas konzentriert. Die erste Krystallisation bestand aus 0,02 g einer Substanz, deren Schmelzpunkt oberhalb 280° lag; sie wurde vernachlässigt. Die zweite Krystallisation ergab 0,28 g Hippursäure vom Schmelzpunkt 187,5° (unkorr.).

Die in absolutem Äther löslichen Anteile dieser Fraktion wurden durch Destillation vom Äther befreit. Hierbei blieb ein schwach braun gefärbter Sirup zurück. Dieser wurde mit 25 ccm Wasser aufgenommen, wobei nicht vollkommene Lösung eintrat. Das Gemisch wurde zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt (wässerige Lösung und Chloroformauszug). Die wässerige Lösung wurde durch Aufkochen vom Chloroform befreit, filtriert und im Polarisationsapparat untersucht. Ihr Volumen betrug 25 ccm. Im 2-dcm-Rohr im polarisierten Lichte untersucht, konnte keine Drehung festgestellt werden. Die Chloroformauszüge hinterließen nach Abdestillieren des Chloroforms einen braunen, öligen Rückstand, der beim Übergießen mit wenig kaltem Wasser krystallinisch erstarrte. Die Krystalle wurden abgesaugt. Ihre Mutterlauge, deren Volumen 35 ccm betrug, zeigte, im 2-dcm-Rohr untersucht, keine Drehung des polarisierten Lichtes. Die abgesaugten Krystalle wurden über Schwefelsäure getrocknet. Ihre Menge betrug 0,43 g. Sie wurden in 10 ccm 10%iger Sodalösung in der Wärme gelöst. Die alkalische Lösung wurde mit Äther wiederholt ausgeschüttelt. Hierbei gingen nur Spuren in den Äther über. Dieser ätherische Auszug wurde vernachlässigt. Beim Ansäuern der alkalischen Lösung entstand eine Trübung, die mit Äther aufgenommen wurde. Der ätherische Auszug der sauren Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und hinterließ nach Abdestillieren des Äthers einen öligen Rückstand, der sofort krystallinisch erstarrte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus 20 ccm Wasser wurden 0,21 g Substanz erhalten. Die Krystalle bestanden aus glänzenden Blättchen und zeigten den Schmelzpunkt von 122° (unkorr.). Die Mischschmelzprobe ergab ihre Identität mit Benzoesäure.

In diesem Versuche wurden nach Verfütterung von 10 g Benzaldehyd 12,18 g Hippursäure und 0,21 g Benzoesäure isoliert.

2. Fütterungsversuch.

Einem Hunde von 5,7 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an 5 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g Benzaldehyd, in 8 ccm Olivenöl gelöst, unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 10 g Benzaldehyd verabreicht.

Die Harne der Versuchstage (5tägiger Harn) wurden in der im ersten Fütterungsversuche geschilderten Weise verarbeitet und zur Ätherextraktion vorbereitet. Die Ätherextraktion dauerte 4 mal 12 Stunden. Im Ätherextrakt hatten sich reichlich Krystalle ausgeschieden. Nach Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand in 100 ccm Wasser gelöst und die Lösung zur Krystallisation aufgestellt. Die ausgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt (A Krystalle, B wässerige Mutterlauge).

A. Krystalle. Die Menge der ausgeschiedenen Krystalle betrug 9,4 g. Ihr Schmelzpunkt lag unscharf bei 185° (unkorr.). Sie wurden in 200 ccm Wasser in der Wärme gelöst. Die Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt und ergab beim Erkalten eine erste Krystallisation von 7,1 g. Diese bestand aus einem Gemisch von wenig Benzoesäure und viel Hippursäure. Zur Trennung dieses Gemisches wurde es mit heißem Benzol ausgekocht, der die Benzoesäure aufnahm und die Hippursäure ungelöst zurückließ. Aus den Benzolauszügen wurden 0,9 g reine Benzoesäure vom Schmelzpunkt 122° (unkorr.) erhalten, die durch die Mischschmelzprobe identifiziert wurden. Die in Benzol unlösliche Hippursäure ergab nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser 5,7 g reine Hippursäure vom Schmelzpunkt 187° (unkorr.), die ebenfalls durch die Mischprobe identifiziert wurde.

Die Mutterlauge der 7,1 g der ersten Krystallisation lieferte beim Einengen eine zweite Krystallisation von 0,4 g Benzoesäure vom Schmelzpunkt 122° (unkorr.). Beim weiteren Einengen der Mutterlauge der zweiten Krystallisation wurde eine dritte Krystallisation von 0,5 g erhalten, die durch ihren Schmelzpunkt 187,5° (unkorr.) und durch die Mischschmelzprobe mit Hippursäure identifiziert wurde.

Die wässerige Mutterlauge B wurde mit Tierkohle entfärbt. Ihr Volumen betrug 120 ccm. Im 2-dcm-Rohr polarisiert, zeigte die Lösung keine Drehung des polarisierten Lichtes. Sie lieferte beim Einengen 0,3 g Hippursäure. Die Mutterlauge dieser Krystallisation wurde mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und 30 Stunden im Extraktionsapparate mit Äther extrahiert. Nach Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein Sirup, der in Wasser aufgenommen wurde. Die wässerige Lösung wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Aus dem Chloroformauszug wurden 0,15 g Benzoesäure vom Schmelzpunkt 122° (unkorr.) isoliert. Die wässerige Lösung lieferte 0,08 g Hippursäure vom Schmelzpunkt 187° (unkorr.).

In diesem Versuche wurden nach Verfütterung von 10 g Benzaldehyd 6,6 g Hippursäure und 1,45 g Benzoesäure isoliert.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XVI. Mitteilung.

Verhalten der α-Phenylbuttersäure im Tierkörper.

Von

E. Friedmann und W. Türk.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

Nach der ziemlich allgemein angenommenen Vorstellung werden im Tierkörper die gesättigten Fettsäuren über die β-Ketonsäuren zu den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren abgebaut. Bei der Leichtigkeit, mit der im chemischen Versuche β-Ketonsäure durch Säurespaltung in die um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren übergehen, ist diese Reaktion als chemische Deutung für die im Tierversuch festgestellte Gesetzmäßigkeit aufgefaßt worden. Zum Studium dieser Gesetzmäßigkeiten sind bisher in der aromatischen Reihe fast ausschließlich endständig phenylsubstituierte Fettsäuren verwendet worden. Dies hat zur Folge, daß wir nur über das Schicksal der der Phenylgruppe benachbarten Kohlenstoffatome unterrichtet sind. Um ein Beispiel zu geben, wissen wir, daß Phenylbuttersäure im Tierkörper in Phenylessigsäure übergeht:

$$\begin{array}{l} C_6H_5.CH_2.CH_2.CH_2.COOH \\ \qquad\qquad\qquad\quad \downarrow \\ C_6H_5.CH_2.COOH. \end{array}$$

Wir erhalten durch diese Abbaureaktion jedoch nur über dasjenige Bruchstück der Phenylbuttersäure, das der Phenylgruppe benachbart ist, Aufschluß und bleiben im unklaren, was aus dem der Karboxylgruppe benachbarten Kohlenstoffatome wird.

Hierdurch verlieren wir den Boden für eine sichere Interpretation der diesen Abbau beherrschenden Reaktionsfolgen.

Wir haben versucht, diese Lücke durch Verfütterung von α-phenylsubstituierten Fettsäuren auszufüllen und prüften das Verhalten der α-Phenylbuttersäure im Tierkörper. Es war zu vermuten, daß, falls diese Säure über die entsprechende β-Ketonsäure abgebaut würde, im Harn der Versuchstiere Phenylessigsäure, die durch Säurespaltung aus der intermediär gebildeten α-Phenyl-β-Ketobuttersäure entstanden wäre, auftreten würde.

$$CH_3.CH_2.CH(C_6H_5).COOH,$$
$$\downarrow$$
$$CH_3.CO.CH(C_6H_5).COOH,$$
$$\downarrow$$
$$CH_3.COOH,\ C_6H_5.CH_2.COOH.$$

Die Fütterungsversuche, die wir mit α-Phenylbuttersäure an Hunden angestellt haben, haben für die Richtigkeit dieser Vermutung keine Anhaltspunkte gegeben. Aus dem Harn der Versuchstiere konnte außer einem neutralen Körper, der nicht untersucht wurde, nur unveränderte α-Phenylbuttersäure isoliert werden.

Fütterungsversuch.

Die zur Verfütterung verwendete α-Phenylbuttersäure war nach den Angaben von Rupe[1]) dargestellt worden.

Einem Hunde von 11,75 kg wurden an 4 aufeinanderfolgenden Tagen 50 ccm einer Lösung von 2 g α-Phenylbuttersäure, die mit Natriumbicarbonat neutralisiert war, unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 8 g α-Phenylbuttersäure verfüttert.

Die Harne der Versuchstage wurden eingedampft und der Rückstand wiederholt mit 93%igem Alkohol ausgezogen. Die alkoholischen Auszüge wurden nach Verjagen des Alkohols mit 100 ccm Wasser aufgenommen, die Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparate 4 mal 12 Stunden mit Äther extrahiert. Am Boden des Extraktionsapparates hatte sich nach dieser Zeit ein brauner Sirup abgeschieden. Der Äther wurde abdestilliert, der sirupöse

[1]) H. Rupe, Liebigs Ann. **369**, 334, 1909.

Rückstand in 75 ccm Wasser aufgenommen und die wässerige Lösung 3 mal mit Chloroform ausgeschüttelt (A. Chloroformauszug, B. wässerige Lösung).

A. Die Chloroformauszüge wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Chloroforms hinterblieb ein Öl, das keine Neigung zum Krystallisieren zeigte. Seine Menge betrug 7,6 g. Es wurde der Destillation unterworfen. Bei 268 bis 270° gingen 5,2 g Substanz über. Der Rückstand im Destillationskolben betrug 2,4 g. Die bei 268 bis 270° übergegangene Substanz dunkelte beim Stehen an der Luft nach. Sie wurde in Natronlauge gelöst, die einen Teil der Substanz ungelöst ließ. Der in Natronlauge unlösliche Anteil wurde durch Ausschütteln mit Äther der alkalischen Flüssigkeit entzogen. Seine Menge betrug 1,3 g. Die wässerige alkalische Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, hierbei entstand eine ölige Ausscheidung, die mit Äther aufgenommen wurde. Die ätherische Lösung wurde getrocknet und durch Destillation vom Äther befreit. Der ölige Rückstand wurde der Destillation unterworfen und ging bei 268 bis 270° über. Denselben Siedepunkt besaß die zur Verfütterung verwendete α-Phenylbuttersäure. Der Nachweis, daß die isolierte Substanz α-Phenylbuttersäure war, wurde durch Titration ihrer wässerigen, alkoholischen Lösung mit $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator geführt.

0,1780 g Substanz. Gef.: 10,7 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge.
Ber.: 10,8 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge.

Die Bestimmung des Äquivalentgewichtes der erhaltenen Substanz ergab nach diesen Zahlen den für α-Phenylbuttersäure verlangten Wert. Die Menge der isolierten, reinen Säure betrug 3,9 g.

B. Die wässerige Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt. Ihr Volumen betrug 125 ccm. Im 2-dcm-Rohr im polarisierten Licht untersucht, zeigte die Flüssigkeit keine Drehung. Sie wurde eingedampft, der Rückstand in 15 ccm Wasser aufgenommen und nach Zusatz von 10 ccm 25%iger Phosphorsäure im Extraktionsapparate 12 Stunden mit Äther extrahiert. In der ätherischen Lösung hatte sich eine krystallinische Substanz ausgeschieden. Nach Abdestillieren des Äthers wurde der Rück-

stand in 50 ccm Wasser aufgenommen, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und die farblose Flüssigkeit eingeengt. Nach 12 stündigem Stehen im Eisschrank hatten sich große, nadelförmige Krystalle ausgeschieden, die abgesaugt und auf Ton abgepreßt wurden. Ihre Menge betrug 0,4 g. Ihr Schmelzpunkt lag bei 183 bis 184° (unkorr.). Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser zeigte sie den für Hippursäure angegebenen Schmelzpunkt von 187,5° (unkorr.) und konnte mit dieser durch die Mischschmelzprobe identifiziert werden. Ihre Menge betrug 0,312 g.

In diesem Versuche wurden nach Verfütterung von 8 g α-Phenylbuttersäure 3,9 g unveränderte α-Phenylbuttersäure und 1,3 g eines neutralen, nicht näher untersuchten Körpers isoliert.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XVII. Mitteilung.

Über die Bildung von Acetessigsäure aus Essigsäure bei der Leberdurchblutung.

Von

E. Friedmann.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

A. Loeb[1]) hat vor kurzem über Durchströmungsversuche berichtet, aus denen hervorgeht, daß Essigsäure den Umfang der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber regelmäßig und beträchtlich steigert. Dieses Resultat steht im Gegensatz zu Angaben, die ich früher gemacht habe[2]), nach denen ich eine Einwirkung der Essigsäure auf die Größe der Acetessigsäurebildung in zwei Durchströmungsversuchen nicht habe feststellen können. Ich habe mich daher bemüht, den Widerspruch, der zwischen den Angaben von Loeb und den meinen besteht, aufzuklären.

Die Technik der früheren Versuche war im wesentlichen die gleiche wie die von Embden und seinen Mitarbeitern verwendete. Die Durchsicht meiner Protokolle zeigte mir, daß die erwähnten Versuche selbst als einwandfrei anzusehen sind. So passierte das gesamte Blut in Versuch 1 bei einem Druck von 40 mm Quecksilber 10mal und in Versuch 2 bei einem Druck von 40 mm ebenfalls 10mal die Leber. Die Resultate dieser Versuche gebe ich in der folgenden Tabelle I wieder.

---

[1]) Adam Loeb, diese Zeitschr. **46**, 118, 1912.

[2]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 202, 1908.

Tabelle I.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
1	2 g Essigsäure mit NH_3 neutralisiert 100 ccm Ringer-Lösung 1500 ccm Rinderblut	255	94	29,8
2	2 g Natriumacetat 100 ccm Ringer-Lösung 1500 ccm Rinderblut	365	50	19,5

Während in diesen Versuchen eine Neubildung des Acetons von 29,8 mg und 19,5 mg pro Liter Durchblutungsflüssigkeit erhalten wurde, beobachtete A. Loeb in 10 Versuchen eine Neubildung von 63 bis 233 mg Aceton pro Liter Durchblutungsblut. Da diese Differenz nicht auf die unzulängliche Technik meiner Versuche zurückzuführen ist, habe ich geprüft, ob die von mir als Lösungsmittel der essigsauren Salze benutzte Ringer-Lösung infolge ihres Gehaltes an Natriumbicarbonat von Einfluß auf die Größe der Acetessigsäurebildung ist. Ich verwendete für diese Versuche Hunde, die 24 Stunden gehungert hatten (Tabelle II).

Tabelle II.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
3	2,0 g Natriumacetat 0,5 g Natriumbicarbonat 100 ccm physiol. NaCl-Lösung 1500 ccm Rinderblut	211	88	51,5
4	2,0 g Natriumacetat 0,5 g Natriumbicarbonat 100 ccm physiol. NaCl-Lösung 1500 ccm Rinderblut	202	80	84,6
5	2,0 g Natriumacetat 0,5 g Natriumbicarbonat 100 ccm physiol. NaCl-Lösung 1500 ccm Rinderblut	108	92	100,6

Die Tabelle II zeigt, daß der Zusatz von essigsaurem Natrium auch bei Gegenwart von Natriumbicarbonat bei Hunden, die 24 Stunden gehungert haben, eine erhebliche Steigerung des Umfangs der Acetessigsäurebildung zur Folge hat. Die Anwesenheit von Natriumbicarbonat in der von mir benutzten Durchströmungsflüssigkeit kann daher nicht für die Differenz zwischen den Beobachtungen von Loeb und meinen früheren Versuchen verantwortlich gemacht werden.

Nach diesen Resultaten ging ich dazu über, zu untersuchen, ob der Ernährungszustand der verwendeten Hunde von Einfluß auf die Größe der Acetessigsäurebildung nach Essigsäurezusatz in der überlebenden Leber ist. Da zahlreiche Erfahrungen dafür sprechen, daß enge Beziehungen zwischen dem Glykogengehalt der Leber und dem Auftreten von β-Oxybuttersäure bestehen, prüfte ich das Verhalten der Essigsäure bei glykogenarmen und glykogenreichen Tieren.

Die Versuche an glykogenarmen Tieren wurden an Hunden ausgeführt, die 3 Tage gehungert hatten. Sie wurden unmittelbar vor dem Versuch nach Einleiten der künstlichen Atmung durch subcutane Injektion von 1 mg Strychninnitrat in lebhafte Krämpfe versetzt. Die Dauer der Strychninkrämpfe betrug $1^1/_2$ bis 2 Stunden.

Da Versuche über die Größe der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber ohne Zusatz einer fremden Substanz bei strychnisierten Hunden nicht vorliegen, stellte ich zuerst eine Reihe von Durchblutungsversuchen an strychnisierten Hunden ohne Zusatz von essigsaurem Natrium an. Über die hierbei erhaltenen Resultate berichtet Tabelle III.

Tabelle III.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
6	1600 ccm Rinderblut	191	86	27,3
7	1600 ccm Rinderblut	180	91	21,8
8	1600 ccm Rinderblut	223	76	29,4
9	1600 ccm Rinderblut	144	89	26,4

Die in der Tabelle III wiedergegebenen Versuche zeigen, daß in der Leber von Hunden, die ihres Glykogens vollständig oder annähernd vollständig durch Strychninkrämpfe beraubt sind, etwa dieselbe Menge Aceton pro Liter Durchblutungsblut gebildet wird wie in den Versuchen an nicht strychnisierten Hunden, die 24 Stunden gehungert haben.

Nach dieser Feststellung stellte ich Durchblutungsversuche an strychnisierten Hunden unter Zusatz von essigsaurem Natrium an (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
10	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösung 1500 ccm Rinderblut	199	87	50,1
11	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösung 1500 ccm Rinderblut	152	78	84,7
12	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösung 1500 ccm Rinderblut	140	80	119,7

Aus den Versuchen der Tabelle IV geht hervor, daß auch bei Hunden, deren Leber durch Strychninkrämpfe ihres Glykogens beraubt sind, Zusatz von essigsaurem Natrium den Umfang der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber erheblich steigert. Die Glykogenarmut der durchströmten Leber kann nach diesen Resultaten nicht maßgebend für das Ausbleiben einer Acetessigsäurebildung nach Essigsäurezusatz in der überlebenden Leber sein.

Die Versuche an glykogenreichen Tieren wurden an Hunden ausgeführt, die täglich große Gaben Traubenzucker mittels Schlundsonde erhielten. Die Hunde bekamen außerdem täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch, das sie anfangs bereitwillig, später jedoch nur unvollständig nahmen. Die letzte Traubenzucker-Applikation wurde etwa 3 bis 5 Stunden vor dem Durchströmungsversuch vorgenommen. Die sonstige Technik dieser Versuche war die von Embden und seinen Mitarbeitern

verwendete. Die Resultate der Durchströmungsversuche an glykogenreichen Lebern sind in Tabelle V wiedergegeben.

Tabelle V.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
13	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1400 ccm Rinderblut	318	76	34,6
14	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1400 ccm Rinderblut	244	64	23,3
15	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1400 ccm Rinderblut	279	80	24,0
16	2 g Natriumacetat 100 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1400 ccm Rinderblut	241	76	29,7

Aus den Versuchen der Tabelle V folgt, daß der Zusatz von essigsaurem Natrium zur Durchströmungsflüssigkeit den Umfang der Acetessigsäurebildung in der überlebenden, glykogenreichen Leber nicht zu erhöhen vermag.

Diese Beobachtung dürfte eine ausreichende Erklärung für die scheinbare Differenz in den Resultaten von Loeb und den meinen darbieten.

Auf die Schwierigkeiten einer chemischen Deutung der von Loeb beobachteten Bildung von Acetessigsäure aus Essigsäure bei der Leberdurchblutung ist bereits von diesem hingewiesen worden. Neben den von Loeb diskutierten Möglichkeiten der Entstehung von Acetessigsäure aus Essigsäure bei der Leberdurchblutung dürfte wohl auch die Kondensation von intermediär auftretendem Acetaldehyd mit Essigsäure zu Crotonsäure, die, wie ich früher gezeigt habe[1]), ein ausgezeichneter Bildner von Acetessigsäure ist, zur Erklärung des hier in Be-

[1]) E. Friedmann, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 371, 1908.

tracht kommenden Reaktionsmechanismus in Erwägung gezogen werden:

$$\begin{array}{l} CH_3.COH + CH_3.COOH \\ \quad\downarrow \\ CH_3.CH=CH.COOH \\ \quad\downarrow \\ CH_3.CH(OH).CH_2.COOH \\ \quad\downarrow \\ CH_3.CO.CH_2.COOH. \end{array}$$

Das physiologische Paradigma für diese Reaktion wäre die von Jaffé und Cohn[1]) entdeckte Bildung von Furfuracrylsäure nach Verfütterung von Furfurol[2]).

$$\begin{array}{l} C_4H_3O.COH + CH_3.COOH \\ \quad\downarrow \\ C_4H_3.O.CH=CH.COOH. \end{array}$$

Die Tatsache, daß nur in Lebern, die sich im Zustand der Glykogenverarmung im Gegensatz zu Lebern, die sich im Zustand der Glykogenanreicherung befinden, eine Bildung von Acetessigsäure nach Essigsäurezusatz stattfindet, könnte vielleicht so gedeutet werden, daß im letzteren Falle die Essigsäure zur Acetylierung der Kohlehydrate oder von Substanzen, die in physiologischer Beziehung zu diesen stehen, vorwiegend Verwendung findet. Diese Vermutung hat zur Voraussetzung, daß die glykogenreichen Lebern ebenfalls befähigt sind, die dem Durchströmungsblut zugesetzte Essigsäure zum Verschwinden zu bringen, eine Frage, mit deren experimenteller Prüfung wir beschäftigt sind.

Für die chemischen Vorgänge, die den physiologischen Abbau der Fettsäuren beherrschen, ist die Beobachtung, daß Essigsäure den Umfang der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber erheblich steigert, von entscheidender Bedeutung. Da allgemein angenommen wird, daß die normalen, gesättigten Fettsäuren über die β-Ketonsäuren durch Säurespaltung zu

---

[1]) M. Jaffé und Rud. Cohn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 2311, 1887.

[2]) Ähnliche Vorstellungen werden von C. Neuberg in einer soeben erschienenen Abhandlung in Oppenheimers Handb. d. Biochem., Ergänzungsband, S. 585, Anm., entwickelt.

den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren abgebaut werden:

$$\begin{array}{l} R.CH_2.CH_2.COOH \\ \downarrow \\ R.CO.CH_2.COOH \\ \downarrow \\ R.COOH + CH_3.COOH, \end{array}$$

so müßten nach dieser Vorstellung sämtliche normalen Fettsäuren bei ihrem physiologischen Abbau Essigsäure liefern. Da nun Essigsäure die Größe der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber beträchtlich erhöht, so wäre zu erwarten, daß sämtliche normalen Fettsäuren auch Acetessigsäure bilden. Tatsächlich entsteht aber Acetessigsäure nur aus den normalen Fettsäuren mit gerader Kohlenstoffatomzahl, nicht aus den normalen Fettsäuren mit ungerader Kohlenstoffatomzahl. Daraus folgt, daß der paarige Abbau der normalen, gesättigten Fettsäuren nicht unter Essigsäureabspaltung verläuft. Aus dieser Schlußfolgerung ergibt sich weiter, daß die Annahme, daß die normalen, gesättigten Fettsäuren über die β-Ketonsäuren durch Säurespaltung zu den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Fettsäuren abgebaut werden, nicht zu Recht besteht.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XVIII. Mitteilung.

Verhalten der Glykolsäure und der Glyoxylsäure bei der Leberdurchblutung.

Von

Junichi Mochizuki.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

Die von A. Loeb[1]) beobachtete Bildung von Acetessigsäure in der überlebenden Leber nach Essigsäurezusatz ist in ihrem chemischen Mechanismus nicht aufgeklärt. E. Friedmann[2]) hat die Vermutung ausgesprochen, daß diese Reaktion möglicherweise durch Kondensation von intermediär entstandenem Acetaldehyd mit Essigsäure im Sinne folgender Formeln zu deuten sei:

$$CH_3.COH + CH_3.COOH$$
$$\downarrow$$
$$CH_3.CH=CH.COOH$$
$$\downarrow$$
$$CH_3.CH(OH).CH_2.COOH$$
$$\downarrow$$
$$CH_3.CO.CH_2.COOH$$

Nach dieser Vorstellung würde das Eintreten von Sauerstoff in die CH_3-Gruppe der Essigsäure das Zustandekommen der Acetessigsäurebildung verhindern. Ich prüfte daher auf Veranlassung von Herrn Prof. E. Friedmann die Oxydationsprodukte

[1]) A. Loeb, diese Zeitschr. **46**, 118, 1912.

[2]) E. Friedmann (siehe vorstehende Arbeit S. 441). Siehe auch C. Neuberg in Oppenheimers Handbuch d. Bioch., Ergänzungsband, S. 585, Anm.

der Essigsäure, die Glykolsäure und die Glyoxylsäure im Durchströmungsversuche auf ihre Fähigkeit, die Größe der Acetessigsäurebildung zu beeinflussen.

Ich verwendete für diese Versuche die Lebern von Hunden, die 24 Stunden gehungert hatten. Die Technik der Durchströmungsversuche war die von Embden und seinen Mitarbeitern verwendete.

Die Resultate, die ich bei Zusatz von Glykolsäure zum Durchblutungsblut erhalten habe, sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Minuten	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
1	2 g Glykolsäure mit NaOH neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	115,5	86	40,6
2	2 g Glykolsäure mit NaOH neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	110,0	82	21,5
3	2 g Glykolsäure mit NaOH neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	250,0	76	27,3
4	2 g Glykolsäure mit NaOH neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	143,7	88	41,1
5	2 g Glykolsäure mit NaOH neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	185,8	75	30,5

Nach den Ergebnissen der Tabelle I ist die Glykolsäure nicht befähigt, die Größe der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber zu beeinflussen.

Die Versuche, die ich mit Glyoxylsäure als Zusatz zum Durchblutungsblut angestellt habe, sind in der Tabelle II wiedergegeben.

Tabelle II.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Minuten	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
6	2 g Glyoxylsäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	137	76	35,0
7	2 g Glyoxylsäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	114	74	22,9
8	2 g Glyoxylsäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	245	79	12,2

Wie die Tabelle II zeigt, findet nach Glyoxylsäurezusatz keine Vermehrung der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber statt.

Im Gegensatz zu dem Verhalten der Essigsäure sind nach diesen Versuchen die Oxydationsprodukte der Essigsäure, die Glykolsäure und die Glyoxylsäure, nicht befähigt, den Umfang und die Größe der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber zu steigern. Hieraus folgt, daß die Essigsäure selber und nicht ihre Oxydationsprodukte in den chemischen Mechanismus der Acetessigsäurebildung nach Essigsäurezusatz in der überlebenden Leber eingreift.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XIX. Mitteilung.[1]

Über Acetessigsäurebildung bei der Leberdurchblutung glykogenreicher Tiere.

Von

Junichi Mochizuki.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

Nach den Beobachtungen von E. Friedmann[1]) ist die Bildung von Acetessigsäure in der überlebenden Leber nach Essigsäurezusatz von dem Glykogenreichtum der verwendeten Tiere abhängig. Während die Lebern von Tieren, die sich im Zustande der Glykogenverarmung befinden, nach den Versuchen von A. Loeb[2]) befähigt sind, die Größe der Acetessigsäurebildung nach Essigsäurezusatz zu steigern, findet in den Lebern von Tieren, die sich nach Zufuhr von großen Zuckermengen im Zustande der Glykogenanreicherung befinden, eine Beeinflussung der Acetessigsäurebildung im Durchströmungsversuche nicht statt. Dieser Unterschied glykogenreicher und glykogenarmer Lebern in der Verarbeitung der Essigsäure bietet eine experimentelle Handhabe zur Entscheidung der Frage, inwieweit das intermediäre Auftreten von Essigsäure für die Bildung von Acetessigsäure in der überlebenden Leber nach Zusatz bestimmter Substanzen in Betracht zu ziehen ist. So könnte man sich vorstellen, daß die Buttersäure im Tierkörper, analog dem Abbau der Phenylbuttersäure zu Phenylessigsäure, zu Essigsäure

[1]) E. Friedmann, diese Zeitschr. **55**, 436, 1913.

[2]) A. Loeb, diese Zeitschr. **46**, 118, 1912.

abgebaut und erst durch diesen Abbau zu Essigsäure Veranlassung zum Auftreten von Acetessigsäure gibt. Ähnliche Erwägungen scheinen für die Bildung von Acetessigsäure aus β-Oxybuttersäure, Crotonsäure und Isovaleriansäure berechtigt. Sollte diese Vorstellung zutreffend sein, so war zu erwarten, daß glykogenreiche Lebern, in denen die Essigsäure keinen Einfluß auf die Größe der Acetessigsäurebildung auszuüben vermag, diesen unter anderen Versuchsbedingungen als Acetessigsäurebildner erwiesenen Substanz gegenüber die Fähigkeit, Acetessigsäure zu bilden, eingebüßt hat. Auf Veranlassung von Herrn Prof. E. Friedmann habe ich diese Frage untersucht und Durchströmungsversuche mit Buttersäure, l-β-Oxybuttersäure, Crotonsäure und Isovaleriansäure an Lebern glykogenreicher Tiere ausgeführt.

Zur Gewinnung glykogenreicher Lebern habe ich den Versuchstieren täglich große Mengen Traubenzucker mittels Schlundsonde gegeben. Die letzte Traubenzuckerapplikation wurde 3 bis 5 Stunden vor der Durchblutung vorgenommen. Außerdem erhielten die Tiere täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch. Die Technik der Durchströmungsversuche war die von Embden und seinen Mitarbeitern verwendete.

Die Versuche, die ich mit Buttersäure als Zusatz zum Durchblutungsblut ausgeführt habe, sind in der Tabelle I wiedergegeben.

Tabelle I.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Minuten	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
1	2 g Buttersäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	249	75	46,0
2	2 g Buttersäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	264	75	97,6

Wie die Versuche der Tabelle I zeigen, findet auch in glykogenreichen Lebern nach Zusatz von Buttersäure eine beträchtliche Bildung von Acetessigsäure statt.

Mit l-β-Oxybuttersäure als Zusatz zum Durchblutungsblut habe ich nur einen Versuch angestellt. Dieser ergab, daß β-Oxybuttersäure auch in der glykogenreichen Leber ein kräftiger Bildner von Acetessigsäure ist (Tabelle II).

Tabelle II.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Minuten	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
3	2 g l-β-Oxybuttersäure mit Natronlauge neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	287	75	172,2

Die Resultate, die ich bei Zusatz von Crotonsäure zum Durchblutungsblut erhalten habe, sind in der Tabelle III angeführt.

Tabelle III.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Minuten	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
4	2 g Crotonsäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	222	76	68,8
5	2 g Crotonsäure mit Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	219	79	67,2

Die Versuche der Tabelle II zeigen, daß Crotonsäure auch in der überlebenden, glykogenreichen Leber die Größe der Acetessigsäurebildung erheblich steigert.

Nicht ganz so beträchtlich ist der Ausschlag in den Experimenten, die ich mit Isovaleriansäure als Zusatz zum Durchblutungsblut angestellt habe. Aber auch in diesen Versuchen ist der Ausschlag deutlich genug, um zu dem Schlusse zu berechtigen, daß die Isovaleriansäure auch in der glykogenreichen Leber die Größe der Acetessigsäurebildung zu steigern vermag.

Tabelle IV.

Nr. des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Minuten	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
6	2 g Isovaleriansäure m. Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	239	76	52,8
7	2 g Isovaleriansäure m. Natriumcarbonat neutralisiert 100 ccm physiol. NaCl-Lsg. 1400 ccm Rinderblut	217	75	54,9

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß β-Oxybuttersäure, Crotonsäure und Isovaleriansäure auch in der glykogenreichen Leber als Bildner von Acetessigsäure anzusehen sind. Für diese Bildung von Acetessigsäure kann das intermediäre Auftreten von Essigsäure nicht von Bedeutung sein.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XX. Mitteilung.

Überführung von Crotonsäure in l-β-Oxybuttersäure durch Leberbrei.

Von

E. Friedmann und C. Maase.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

Crotonsäure wird, wie der eine von uns beobachtet hat[1]), durch die überlebende Leber in Acetessigsäure übergeführt. Dementsprechend konnte Blum[2]) zeigen, daß Crotonsäure im Stoffwechselversuch am schweren Diabetiker zu β-Oxybuttersäure umgewandelt wird. Diese Reaktion ist von dem einen von uns[3]) durch die Annahme gedeutet worden, daß die α-β-ungesättigten Säuren durch Anlagerung von Wasser in die entsprechenden gesättigten β-Oxysäuren übergehen, die dann weiter zu β-Ketosäuren oxydiert werden. Für die Bildung von Acetessigsäure aus Crotonsäure käme demnach folgender Reaktionsmechanismus in Betracht:

$$\begin{array}{c} CH_3.CH=CH.COOH \\ \downarrow \\ CH_3.CH(OH).CH_2.COOH \\ \downarrow \\ CH_3.CO.CH_2.COOH. \end{array}$$

Diese Deutung ist jedoch keine zwingende, da gezeigt worden ist, daß Substanzen, wie der Acetaldehyd[4]) und die

[1]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 371, 1908.
[2]) L. Blum, Münch. med. Wochenschr. **1910**, 683.
[3]) E. Friedmann, l. c., S. 374.
[4]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 202, 1908.

Essigsäure[1]), die als Abbauprodukt der Crotonsäure in Betracht kommen, befähigt sind, die Größe der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber erheblich zu steigern. Zwar ist die Essigsäure, wie Mochizuki[2]) wahrscheinlich gemacht hat, für die Bildung von Acetessigsäure aus Crotonsäure nicht von Bedeutung, jedoch stehen für den Acetaldehyd einschlägige Beobachtungen zurzeit noch aus. Es schien uns daher wünschenswert, zu untersuchen, ob nicht in einer einfacheren Versuchsanordnung, als sie der Durchströmungsversuch bietet, eindeutige Beziehungen zwischen Crotonsäure und Acetessigsäure nachweisbar sind. Wir prüften zu diesem Zwecke das Verhalten der Crotonsäure bei ihrer Digestion mit Leberbrei und suchten festzustellen, ob und unter welchen Bedingungen Crotonsäure durch Leberbrei in l-β-Oxybuttersäure übergeführt wird.

Versuchsanordnung.

Wir verwendeten zu unseren Versuchen Hunde, die 24 Stunden gehungert hatten. Sie wurden durch Schlag gegen die Stirn betäubt und aus den Carotiden oder den Femorales entblutet. Die Leber wurde unter Vermeidung stärkerer Abkühlung mit sterilen Instrumenten entnommen und unter aseptischen Kautelen zerkleinert. Eine abgewogene Menge Leberbrei wurde in der dreifachen Menge Blut, das vom Versuchstiere stammte und durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert war, oder mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Bei den Versuchen, in denen wir dem Digestionsgemisch Crotonsäure hinzufügten, wurde 1 g Crotonsäure in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, die Lösung mit 11,5 ccm Normal-Natronlauge neutralisiert und auf 50 ccm aufgefüllt. Um die Versuchsbedingungen möglichst gleichmäßig zu halten, wurde in den Versuchen, die wir unter Zusatz von Crotonsäure anstellten, ein der Lösung der Crotonsäure entsprechend geringeres Volumen Blut oder physiologische Kochsalzlösung verwendet oder den Kontrollversuchen die entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt. Das Digestionsgemisch wurde in sterilisierten, mit Quecksilberverschluß versehenen Pulverflaschen in einem Ostwaldschen Wasserbade bei 37 bis 39° 6 Stunden

[1]) A. Loeb, diese Zeitschr. **46**, 118, 1912.

[2]) Junichi Mochizuki, diese Zeitschr. **55**, 448, 1913.

gerührt. Nach dieser Zeit wurde es mit dem sechsfachen Volumen 92%igen Alkohols gefällt. Nach 24 stündigem Stehen wurde der über dem Niederschlag stehende Alkohol abfiltriert, der Niederschlag sorgfältig abgepreßt, mit Alkohol wiederholt angerührt und jedesmal sorgfältig ausgepreßt. Die abgepreßte Flüssigkeit wurde filtriert und mit dem ersten Filtrat vereinigt. Der nach Abdampfen des Alkohols verbleibende Rückstand wurde mit verdünnter Natronlauge alkalisch gemacht. Die Lösung wurde zur Entfernung der Fette im Scheidetrichter mehrere Male mit Äther ausgeschüttelt, mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und 12 Stunden im Extraktionsapparate mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wurde gewogen und mit so viel Wasser versetzt, daß das Gewicht der Flüssigkeit 25 g betrug. Darauf wurde die Lösung mit Tierkohle unter gelindem Erwärmen geklärt, filtriert und im 2-dcm-Rohr polarisiert, Aus der beobachteten Linksdrehung wurde der Gehalt an β-Oxybuttersäure berechnet. Der Nachweis, daß die erhaltene, linksdrehende Säure tatsächlich β-Oxybuttersäure war, wurde durch ihre Überführung in Crotonsäure erbracht.

Digestion von Leberbrei mit Crotonsäure bei Anwesenheit von Blut und unter Einleiten von Sauerstoff.

In der ersten Versuchsreihe arbeiteten wir unter Bedingungen, die den Verhältnissen im Durchströmungsversuche möglichst nahe kommen sollten. Wir setzten dem Leberbrei die dreifache Menge Blut hinzu und sorgten durch Einleiten von Sauerstoff für eine kräftige Arterialisierung. Der Leberbrei wurde in zwei Teile geteilt. Der eine Teil wurde mit Blut angerührt und das Gemisch mit Crotonsäure versetzt. Der andere Teil diente als Kontrollversuch und wurde ohne Hinzufügung von Crotonsäure in derselben Weise und zu gleicher Zeit wie der erste Teil zur Digestion angesetzt. Über die erhaltenen Resultate berichtet Tabelle I.

Die Versuche der Tabelle I zeigen, daß in einem Gemisch von Leberbrei, Blut und Crotonsäure bei Anwesenheit von Sauerstoff l-β-Oxybuttersäure auftritt, während in den Kontrollversuchen, in denen keine Crotonsäure hinzugefügt ist, β-Oxybuttersäure nicht nachweisbar ist.

Tabelle I.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Dauer der Digestion	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
1	50 g Leberbrei 150 ccm Blut {50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6h 15′	−0,10	88,1	Hund I (Berechnung unter Berücksichtigung der Rechtsdrehung des Versuchs 2)
2	50 g Leberbrei 150 ccm Blut 50 ccm physiol. NaCl-Lösung	6h 15′	+0,07	—	Hund I (Kontrolle zu Versuch 1)
3	90 g Leberbrei 180 ccm Blut {50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6h	−0,05	25,9	Hund III
4	80 g Leberbrei 160 ccm Blut 50 ccm physiol. NaCl-Lösung	6h	0	—	Hund III (Kontrolle zu Versuch 3)
5	50 g Leberbrei 150 ccm Blut {50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6h	−0,04	20,7	Hund IV
6	50 g Leberbrei 125 ccm Blut 50 ccm physiol. NaCl-Lösung	6h	0	—	Hund IV (Kontrolle zu Versuch 5)

Tabelle II.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Dauer der Digestion	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
7	200 ccm Blut {50 ccm physiol. NaCl-Lösg. 2 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	0	—	Hund VII
8	200 ccm Blut 50 ccm physiol. NaCl-Lösg.	6h	0	—	Hund VII (Kontrolle zu Versuch 8)
9	150 ccm Blut {50 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	0	—	Hund VIII
10	150 ccm Blut 50 ccm physiol. NaCl-Lösg.	6h	0	—	Hund VIII (Kontrolle zu Versuch 9)

Besondere Versuche wurden angestellt, um zu ermitteln, ob die Überführung der Crotonsäure in β-Oxybuttersäure durch den Leberbrei oder durch das mit Sauerstoff gesättigte Blut vermittelt wird (Tabelle II).

Aus den Versuchen der Tabelle II geht hervor, daß Blut und Sauerstoff nicht die Fähigkeit haben, Crotonsäure in l-β-Oxybuttersäure umzuwandeln.

Digestion von Leberbrei mit Crotonsäure unter Einleiten von Sauerstoff.

In der zweiten Versuchsreihe änderten wir die Bedingungen derart, daß wir an Stelle des in der ersten Versuchsreihe verwendeten Blutes physiologische Kochsalzlösung dem Leberbrei hinzufügten. In das Digestionsgemisch wurde auch hier Sauerstoff eingeleitet. Die erhaltenen Resultate sind in der Tabelle III wiedergegeben.

Tabelle III.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Dauer der Digestion	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
11	50 g Leberbrei + 150 ccm physiol. NaCl-Lsg. + 0,5 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	−0,06	31,1	Hund V
12	50 g Leberbrei + 150 ccm physiol. NaCl-Lsg. + 0,5 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	−0,05	25,9	Hund V
13	50 g Leberbrei + 150 ccm physiol. NaCl-Lsg. + 0,5 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	−0,05	25,9	Hund VI
14	50 g Leberbrei + 150 ccm physiol. NaCl-Lsg. + 0,5 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	−0,05	25,9	Hund VI

Wie Tabelle III zeigt, vermag Leberbrei auch bei Ersatz von Blut durch physiologische Kochsalzlösung bei Anwesenheit von Sauerstoff Crotonsäure in l-β-Oxybuttersäure überzuführen.

Digestion von Leberbrei mit Crotonsäure.

Wir wandten uns jetzt der Frage zu, ob die Anwesenheit von überschüssigem Sauerstoff notwendig für das Zustandekommen der Reaktion wäre. Wir stellten daher Versuche an, in denen wir Leberbrei mit Crotonsäure, die in physiologischer Kochsalzlösung gelöst war, digerierten, ohne in das Gemisch Sauerstoff einzuleiten (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Dauer der Digestion	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
15	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösg. 50 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	− 0,04	20,7	Hund IX
16	60 g Leberbrei 180 ccm physiol. NaCl-Lösg.	6h	0	—	Hund IX (Kontrolle zu Versuch 15)
17	50 g Leberbrei 100 ccm physiol. NaCl-Lösg. 50 ccm physiol. NaCl-Lösg. 1 g Crotonsäure m. Natronlauge neutralisiert	6h	− 0,10	57,0	Hund X (Berechnung unter Berücksichtigung der Rechtsdrehung in dem Kontrollversuch 18)
18	50 g Leberbrei 150 ccm physiol. NaCl-Lösg.	6h	+ 0,01	—	Hund X (Kontrolle zu Versuch 17)

Wie aus der Tabelle IV ersichtlich ist, findet eine Bildung von l-β-Oxybuttersäure aus Crotonsäure durch Leberbrei auch bei Abwesenheit von überschüssigem Sauerstoff statt. Die Größe der β-Oxybuttersäurebildung ist etwa die gleiche wie in den Versuchen, in denen wir durch Einleiten von Sauerstoff für das reichliche Vorhandensein von Sauerstoff sorgten.

Digestion von Leberbrei mit Crotonsäure unter Einleiten von Kohlensäure.

Die Beobachtung, daß Crotonsäure in l-β-Oxybuttersäure durch Leberbrei auch bei Abwesenheit von überschüssigem Sauerstoff übergeführt wird, legte die Frage nahe, ob die Anwesenheit von Sauerstoff für das Zustandekommen der Reaktion

überhaupt notwendig ist. Da wir das Digestionsgemisch in ziemlich geräumigen Flaschen durch Rühren in dauernder Bewegung hielten, war der in der Flasche befindliche Luftsauerstoff in beständiger Berührung mit der Reaktionsflüssigkeit. Die Möglichkeit einer Beteiligung des Sauerstoffs an der Reaktion war daher nicht vollständig ausgeschlossen.

Tabelle V.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Dauer der Digestion	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
19	60 g Leberbrei 180 ccm physiol. NaCl-Lösung	6 h	+ 0,06	—	Hund XI
20	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösung 50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6 h	— 0,04	51,8	Hund XI (Berechnung unter Berücksichtigung der Rechtsdrehung im Kontrollversuch 19)
21	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösung 50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6 h	0	—	Hund XI Kohlensäure eingeleitet
22	60 g Leberbrei 180 ccm physiol. NaCl-Lösung	6 h	0	—	Hund XII
23	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösung 50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6 h	— 0,04	20,7	Hund XII
24	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösung 50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6 h	0	—	Hund XII Kohlensäure eingeleitet
25	50 g Leberbrei 150 ccm physiol. NaCl-Lösung	6 h	0	—	Hund XIII
26	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösung 50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6 h	— 0,05	25,9	Hund XIII
27	60 g Leberbrei 130 ccm physiol. NaCl-Lösung 50 ccm physiol. NaCl-Lösung 1 g Crotonsäure mit Natronlauge neutralisiert	6 h	0	—	Hund XIII Kohlensäure eingeleitet

Wir suchten unter Abänderung der Versuchsbedingungen den Sauerstoff durch Einleiten von Kohlensäure aus dem Reaktionsgemisch zu verdrängen und prüften, ob Leberbrei bei Anwesenheit von überschüssiger Kohlensäure Crotonsäure in l-β-Oxybuttersäure überzuführen vermag.

Wir stellten mit dem Leberbrei der Versuchstiere jedesmal drei Parallelversuche an. In dem ersten Versuch wurde Leberbrei ohne Zusatz von Crotonsäure zur Digestion angesetzt, im zweiten Versuch unter Zusatz von Crotonsäure, und im dritten Versuch unter Zusatz von Crotonsäure und Einleiten von Kohlensäure. Die hierbei erhaltenen Resultate sind in der Tabelle V zusammengestellt.

Aus den Versuchen der Tabelle V geht hervor, daß Kohlensäure die Fähigkeit des Leberbreies, Crotonsäure in β-Oxybuttersäure umzuwandeln, aufhebt. Wie diese Wirkung der Kohlensäure zu erklären ist, ist vorläufig nicht zu ersehen und wird zurzeit im hiesigen Laboratorium weiter untersucht.

Die mitgeteilten Versuche bringen den Beweis, daß Leberbrei Crotonsäure in l-β-Oxybuttersäure überzuführen vermag. Wenn es auch nicht gelang, den Mechanismus dieser Reaktion als Wasseranlagerung einwandfrei aufzuklären, so glauben wir doch zu der Annahme berechtigt zu sein, daß den einfacheren Versuchsbedingungen, wie sie der Digestionsversuch im Vergleich mit dem Durchströmungsversuch darbietet, auch ein weniger kompliziertes chemisches Geschehen entspricht. Bei einer Deutung der Reaktion, die auf das intermediäre Auftreten von Acetaldehyd zurückgreifen würde, hätten wir das Nacheinander von Oxydation, Synthese und nochmaliger Oxydation anzunehmen, Vorgänge, deren Regulation in dem differenzierten Organismus der Zellen oder der Zellkomplexe verständlich ist, deren Ineinandergreifen im Leberbreiversuche jedoch wenig Wahrscheinlichkeit besitzt. Wir glauben daher zu der Annahme berechtigt zu sein, daß die Bildung von β-Oxybuttersäure aus Crotonsäure durch Leberbrei eine Reaktion darstellt, die von dem intakten Molekül der Crotonsäure ausgeht, und überlassen es weiterer Forschung, den feineren Mechanismus dieser Reaktion aufzuklären.

Über die Verbreitung der Ketoreduktase in den Geweben.

Von

L. von Lagermark.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

E. Friedmann und C. Maase[1]) haben in der Leber ein Ferment gefunden, das Acetessigsäure durch asymmetrische Reduktion in l-β-Oxybuttersäure überführt. Sie haben dieses Ferment Ketoreduktase genannt. Auf Veranlassung von Herrn Prof. E. Friedmann habe ich untersucht, ob das Vorhandensein der Ketoreduktase auch in anderen Geweben als in der Leber nachzuweisen ist.

Ich verwendete zu meinen Versuchen Hunde, die 24 Stunden gehungert hatten. Sie wurden durch Schlag gegen den Kopf betäubt und aus den Carotiden oder den Femorales möglichst vollständig entblutet. Der unter aseptischen Kautelen bereitete Organbrei wurde mit einer abgemessenen Menge einer frisch hergestellten Lösung von acetessigsaurem Natrium von bekanntem Gehalt und mit einer abgemessenen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Die Kontrollprobe wurde mit der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung beschickt. Die Dauer der Digestion betrug 5 Stunden. Die Verarbeitung des Digestionsgemisches auf β-Oxybuttersäure wurde in der von E. Friedmann und C. Maase[2]) beschriebenen Weise vorgenommen.

Die Versuche, die ich mit Muskelbrei angestellt habe, sind in der Tabelle I dargestellt.

Die Tabelle I zeigt, daß im Muskelgewebe die Ketoreduktase nachzuweisen ist.

---

[1]) E. Friedmann und C. Maase, diese Zeitschr. 27, 474, 1910.

[2]) E. Friedmann und C. Maase, diese Zeitschr. 27, 482, 1910.

Tabelle I.
Einwirkung von Muskelbrei auf Acetessigsäure.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
1	100 g Muskelbrei 90 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	−0,06	31,1	Hund II
2	94,5 g Muskelbrei 95 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund II (Kontrolle zu Vers. 1)
3	90 g Muskelbrei 80 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	−0,07	36,3	Hund III
4	90 g Muskelbrei 90 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund III (Kontrolle zu Vers. 3)
5	100 g Muskelbrei 90 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	−0,09	46,6	Hund IV
6	100 g Muskelbrei 100 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund IV (Kontrolle zu Vers. 5)
7	100 g Muskelbrei 90 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	−0,09	46,6	Hund V
8	100 g Muskelbrei 100 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund V (Kontrolle zu Vers. 7)

Ebenso konnte das Vorhandensein von Ketoreduktase im Nierenbrei gezeigt werden (Tabelle II).

Tabelle II.
Einwirkung von Nierenbrei auf Acetessigsäure.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
9	44 g Nierenbrei 34 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	−0,04	20,7	Hund I
10	19 g Nierenbrei 9 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	−0,03	15,5	Hund II

Tabelle II (Fortsetzung).

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
11	58 g Nierenbrei 48 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	− 0,06	31,1	Hund III
12	35 g Nierenbrei 25 ccm physiol. NaCl-Lösg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	− 0,06	31,1	Hund IV
13	46 g Nierenbrei 46 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund V
14	88 g Nierenbrei 88 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund VI
15	47 g Nierenbrei 47 ccm physiol. NaCl-Lösg.	—	0	—	Hund VII

Tabelle III.

Einwirkung von Blut auf Acetessigsäure.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
16	155 ccm Blut 145 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,4672	0,00	—	Hund VI
17	155 ccm Blut 155 ccm physiol. NaCl-Lsg.	—	0	—	Hund VI (Kontrolle z. Vers. 16)
18	230 ccm Blut 220 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,4672	0,00	—	Hund VII
19	230 ccm Blut 230 ccm physiol. NaCl-Lsg.	—	0	—	Hund VII (Kontrolle z. Vers. 18)
20	100 ccm Blut 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,4672	0,00	—	Hund VIII
21	100 ccm Blut 10 ccm physiol. NaCl-Lsg.	—	0	—	Hund VIII (Kontrolle z. Vers. 20)

Dagegen fehlte die Ketoreduktase im Blut, in der Lunge, im Pankreas und in der Milz. Die mit diesen Geweben an-

gestellten Versuche sind in den Tabellen III bis VI wiedergegeben.

Tabelle IV.

Einwirkung von Lungenbrei auf Acetessigsäure.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
22	30 g Lungenbrei 20 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	0,00	—	Hund II
23	43 g Lungenbrei 33 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	0,00	—	Hund III
24	31 g Lungenbrei 21 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	0,00	—	Hund IV
25	48 g Lungenbrei 38 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	0,00	—	Hund V

Tabelle V.

Einwirkung von Pankreasbrei auf Acetessigsäure.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
26	19 g Pankreasbrei 9 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	0,00	—	Hund III
27	18 g Pankreasbrei 8 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	0,00	—	Hund IV
28	21 g Pankreasbrei 11 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	0,00	—	Hund V
29	19 g Pankreasbrei 9 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,4672	0,00	—	Hund VI

Tabelle VI.

Einwirkung von Milzbrei auf Acetessigsäure.

Nummer des Versuches	Digestionsgemisch	Zugesetzte Acetessigsäure g	Drehung des Ätherextraktes	Menge der gebildeten β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
30	25 g Milzbrei 15 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,6802	0,00	—	Hund III
31	20 g Milzbrei 10 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	0,00	—	Hund IV
32	22 g Milzbrei 12 ccm physiol. NaCl-Lsg. 10 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,3281	0,00	—	Hund V

Außer in der Leber ist nach diesen Versuchen die Ketoreduktase in den Muskeln und in den Nieren vorhanden, jedoch nicht im Blut, in der Lunge, im Pankreas und in der Milz.

Weitere Versuche über den Abbau des Naphthalinkernes im Tierkörper.

Von

E. Friedmann und W. Türk.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

T. Kikkoji hat im hiesigen Laboratorium beobachtet, daß β-Naphthalanin und besonders β-Naphthylbrenztraubensäure an Hunde per os verfüttert zu Benzoesäure abgebaut werden[1]). Kikkoji hat jedoch die Frage offen gelassen, ob diese Oxydation des Naphthalinkernes, analog der Aufspaltung des Benzolkörpers im Tierkörper, in Abhängigkeit vom Bau der Seitenkette erfolgt. Wir haben diese Frage zu entscheiden versucht, indem wir Fütterungsversuche mit β-Naphthoesäure, β-Naphthylessigsäure und β-Naphthylbrenztraubensäure ausführten, und zwar applizierten wir diese Substanzen Hunden sowohl subcutan wie per os.

Bei Verfütterung von β-Naphthylbrenztraubensäure an Hunde per os stellten wir in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Kikkoji eine Vermehrung der ausgeschiedenen Hippursäure fest. Dagegen ließen weder β-Naphthoesäure noch β-Naphthylessigsäure, Hunden per os verabfolgt, eine Bildung von Hippursäure erkennen. Die physiologische Oxydation des Naphthalinkernes zu Benzoesäure erfolgt demnach analog der Aufspaltung des Benzolkernes in Abhängigkeit vom Bau der Seitenkette. Dagegen berechtigen die Resultate, die wir bei subcutaner Applikation von β-Naphthylbrenztraubensäure erhielten, zu zweifeln, ob die Aufsprengung des Naphthalin-

[1]) T. Kikkoji, diese Zeitschr. **35**, 57, 1911.

kernes eine Reaktion des intermediösen Stoffwechsels des Tierkörpers darstellt, da β-Naphthylbrenztraubensäure ebensowenig wie β-Naphthylessigsäure und β-Naphthoesäure, Hunden subcutan injiziert, in Hippursäure übergingen. Dieses differente Verhalten der β-Naphthylbrenztraubensäure bei subcutaner Applikation und bei Verfütterung per os könnte zwar eine ausreichende Erklärung in der Verschiedenheit der Resorptionsverhältnisse bei subcutaner Applikation und bei Verfütterung per os finden, aber ebenso ist die Möglichkeit zu erwägen, daß der Abbau der β-Naphthylbrenztraubensäure zu Benzoesäure das Resultat bakterieller Prozesse im Magen-Darmkanal darstellt. Mit der Prüfung dieser Möglichkeiten sind wir beschäftigt.

Über die Ergebnisse der einzelnen Fütterungsversuche sei folgendes bemerkt.

β-Naphthoesäure ist bereits von R. Cohn[1]) an Kaninchen und Hunde verfüttert worden. R. Cohn gibt an, daß β-Naphthoesäure, an Kaninchen per os verfüttert, zum Teil unverändert den Organismus verläßt, zum Teil mit Glykokoll gepaart als β-Naphthursäure zur Ausscheidung gelangt. Bei Verfütterung von β-Naphthoesäure an Hunde konnte R. Cohn jedoch keine Bildung von β-Naphthursäure beobachten, und nur unveränderte Substanz aus dem Harn der Versuchstiere isolieren. Wir haben sowohl bei subcutaner Applikation von β-Naphthoesäure wie bei Verfütterung per os an Hunde neben unangegriffener β-Naphthoesäure β-Naphthursäure aus dem Harn der Versuchstiere gewonnen. Daneben scheint noch in geringer Menge ein weiteres Umwandlungsprodukt der β-Naphthoesäure aufzutreten, mit dessen Untersuchung wir beschäftigt sind. Zur Identifizierung der erhaltenen β-Naphthursäure führten wir die Synthese der β-Naphthursäure aus.

β-Naphthylessigsäure, Hunden subcutan verabfolgt, wird etwa zur Hälfte unverändert ausgeschieden. Eine Paarung mit Glykokoll, wie sie das entsprechende Benzolderivat, die Phenylessigsäure, erfährt, konnte nicht beobachtet werden. Die Menge der ausgeschiedenen Hippursäure war in der Fütterungsperiode nicht größer als in der Vorperiode. Dieselben Resultate erhielten wir bei Verfütterung von β-Naphthylessigsäure per os,

[1]) R. Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 127, 1894.

nur war unter diesen Bedingungen die Menge der unverändert wiedergewonnenen β-Naphthylessigsäure noch geringer als bei subcutaner Application. Über den Verbleib der nicht im Harn wiedererschienenen β-Naphthylessigsäure haben wir keinen Anhaltspunkt gewinnen können.

β-Naphthylbrenztraubensäure wurde bei subcutaner Verabreichung an Hunde zum Teil zu β-Naphthylessigsäure abgebaut. Ein Einfluß der verfütterten Substanz auf die Hippursäureausscheidung konnte in zwei Versuchen nicht festgestellt werden. In dem ersten Versuch betrug die Menge der in 3 Tagen ausgeschiedenen Hippursäure 0,701 g gegen 0,675 g der Vorperiode, in dem zweiten Versuche 0,312 g während der Fütterungsperiode gegen 0,249 g der Vorperiode. Dagegen wurden nach Verfütterung von β-Naphthylbrenztraubensäure an einen Hund per os 0,950 g Hippursäure in der Versuchsperiode ausgeschieden gegen 0,506 g in der Vorperiode. Außer Hippursäure wurden auch unter diesen Bedingungen geringe Mengen von β-Naphthylessigsäure isoliert.

Fütterungsversuche.

I. Fütterung von β-Naphthoesäure.

Das zu den Fütterungsversuchen verwendete Präparat von β-Naphthoesäure war von Kahlbaum bezogen. Es zeigte die Eigenschaften der β-Naphthoesäure und den für diese Substanz angegebenen Schmelzpunkt von 182° (unkorr.).

Subcutane Applikation von β-Naphthoesäure.

1. Fütterungsversuch. Einem Hunde von 9,4 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g β-Naphthoesäure als Natriumsalz in 30 ccm Wasser unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 6 g β-Naphthoesäure verfüttert.

Der Harn der Fütterungstage und des 1. Tages (4 tägiger Harn) wurde vereinigt und zum dünnen Sirup eingedampft. Der Sirup wurde mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft, der nach Abdampfen des Alkohols verbleibende Sirup in 200 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit 100 ccm 25%iger Phosphorsäure versetzt und im Extraktionsapparat 4 mal 12 Stunden extrahiert.

Der nach Abdestillieren des Äthers hinterbleibende krystallinische Rückstand wurde mit Chloroform wiederholt ausgekocht. Dabei blieb ein Teil ungelöst (chloroformunlöslicher Rückstand A), ein Teil ging in Lösung (Chloroformauszug B).

A. Chloroformunlöslicher Rückstand. Der in Chloroform unlösliche Rückstand wurde mehrmals mit Wasser ausgekocht. Er ging dabei allmählich vollständig in Lösung. Beim Erkalten schieden sich schöne Krystalle aus, die abgesaugt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurden. Ihre Menge betrug 3,4 g. Der Schmelzpunkt des Rohproduktes lag bei 162 bis 165° (unkorr.). Die wässerige Mutterlauge dieser Krystallisation wurde eingeengt, und, da bei längerem Stehen keine weitere Krystallisation zu erzielen war, vernachlässigt.

Die gewonnene Substanz wurde in 250 ccm heißem Wasser gelöst und die Lösung mit Tierkohle entfärbt. Aus der entfärbten Lösung krystallisierten große, breite, silberglänzende Nadeln und Blättchen aus, deren Schmelzpunkt bei 169 bis 170° (unkorr.) lag. Nochmals aus 200 ccm Wasser umkrystallisiert, blieb ihr Schmelzpunkt konstant. Im ganzen wurden 1,09 g reine Substanz gewonnen, die zur Analyse im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurden.

0,1202 g Substanz: CO_2 0,3003 g, H_2O 0,0533 g
0,1571 g Substanz: N 8,2 ccm (18°, 754 mm).
$C_{18}H_{11}NO_3$. Ber.: C 68,12%, H 4,80%, N 6,11%
Gef.: C 68,13%, H 4,96%, N 6,08%.

Schmelzpunkt und Analyse der erhaltenen Substanz wiesen darauf hin, daß sie identisch mit der von R. Cohn aus Kaninchenharn nach Verfütterung von β-Naphthoesäure isolierten β-Naphthursäure war. Ein Vergleich des von uns aus dem Hundeharn isolierten Körpers mit synthetisch dargesteller β-Naphthursäure zeigte die völlige Übereinstimmung der beiden Substanzen. Dementsprechend ergab die Mischprobe von synthetisch dargestellter β-Naphthursäure mit der aus dem Harn gewonnenen Substanz die Identität der beiden Substanzen.

B. Chloroformauszug. Die Chloroformlösung wurde durch Destillation vom Chloroform befreit. Der Rückstand erstarrte zu einer hellbraunen Krystallmasse. Diese wurde durch Kochen

mit Wasser zum Teil in Lösung gebracht und die wässerige Lösung und der in Wasser schwer lösliche Anteil getrennt untersucht.

Aus der wässerigen Lösung schieden sich beim Erkalten Krystalle ab, deren Menge 0,8 g betrug. Nach einmaligem Umlösen aus 225 ccm heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle zeigten sie den für β-Naphthoesäure angegebenen Schmelzpunkt von 182° (unkorr.) und konnten mit dieser durch die Mischprobe identifiziert werden.

Der in Wasser schwer lösliche Anteil bestand ebenfalls zum größten Teil aus β-Naphthoesäure. Zu ihrer Gewinnung wurde der in Wasser schwer lösliche Anteil in Sodalösung gelöst, die Lösung mit Kieselgur geklärt, filtriert und das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert. Nach 12stündigem Stehen im Eisschrank wurden die Krystalle abgesaugt. Ihre Menge betrug 0,7 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser hatten sie den Schmelzpunkt der β-Naphthoesäure von 182° (unkorr.), der bei erneutem Umlösen konstant blieb. Löslichkeitsverhältnisse, Eigenschaften und Mischprobe ergaben die Identität der aus dem Harn gewonnenen Substanz mit β-Naphthoesäure.

In diesem Versuche wurden nach subcutaner Verabfolgung von 6 g β-Naphthoesäure 3,4 g rohe und 1,09 g reine β-Naphthursäure und 1,5 g β-Naphthoesäure isoliert.

2. Fütterungsversuch. Einem Hunde von 5,3 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g β-Naphthoesäure als Natriumsalz in 50 ccm Wasser unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 4 g β-Naphthoesäure injiziert.

Verarbeitet wurde der Harn der zwei Versuchstage und des ersten Nachtages (3tägiger Harn). Die Vorbereitung zur Ätherextraktion geschah in der im 1. Fütterungsversuche beschriebenen Weise. Die Ätherextraktion dauerte 4 mal 12 Stunden.

Nach Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein brauner öliger Rückstand. Dieser wurde mit Chloroform wiederholt ausgekocht, wobei ein Teil in Lösung ging (A Chloroformauszug, B chloroformunlöslicher Rückstand).

A. Chloroformauszug. Die Chloroformauszüge werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren

des Chloroforms hinterblieb ein Rückstand, der krystallinisch erstarrte. Seine Menge betrug 2,9 g. Er wurde mit 600 ccm Wasser ausgekocht, die Lösung heiß filtriert und 12 Stunden in den Eisschrank gestellt. Hierbei wurden 2,2 g Krystalle erhalten. Sie zeigten nach nochmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser die Eigenschaften und den Schmelzpunkt von 182° (unkorr.) der β-Naphthoesäure, mit der sie durch die Mischprobe identifiziert werden konnten.

B. Der in Chloroform unlösliche Rückstand wurde in 100 ccm heißem Wasser gelöst, die Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt und eingeengt. Nach 12stündigem Stehen der eingeengten Lösung hatten sich 2,01 g gefärbter Krystalle abgeschieden, deren Schmelzpunkt bei 205° (unkorr.) lag. Sie wurden in 50 ccm heißem Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und zur fraktionierten Krystallisation eingeengt. Die erste Krystallisation lieferte 0,9 g Substanz. Ihr Schmelzpunkt lag bei 165° (unkorr.). Nach nochmaligem Umlösen aus heißem Wasser zeigte sie den Schmelzpunkt von 169 bis 170° (unkorr.), der bei weiterem Umkrystallisieren konstant blieb. Eigenschaften, Schmelzpunkt und Mischprobe ergaben die Identität dieser Substanz mit β-Naphthursäure. Aus 0,9 g roher β-Naphthursäure wurden 0,51 g reine β-Naphthursäure erhalten. Beim Einengen der Mutterlauge der ersten Krystallisation wurde eine zweite Krystallisation erhalten, deren Menge 0,3 g betrug. Der Schmelzpunkt dieser Krystalle lag bei 215° (unkorr.). Nach nochmaligem Umkrystallisieren stieg der Schmelzpunkt auf 220 bis 222° (unkorr.) und blieb bei weiterem Umlösen konstant bei 220 bis 222° (unkorr.). Wir haben diese bei 220 bis 222° (unkorr.) schmelzende Substanz bisher nicht identifizieren können.

In diesem Versuche wurden nach subcutaner Verabfolgung von 4 g β-Naphthoesäure 2,2 g β-Naphthoesäure, 0,9 g rohe und 0,51 g reine β-Naphthursäure und 0,3 g einer bei 220 bis 222° schmelzenden, bisher nicht identifizierten Substanz isoliert.

Fütterung von β-Naphthoesäure per os.

Einem Hunde von 5,3 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g β-Naphthoesäure, die in das Natriumsalz übergeführt

war, in Fleisch eingehüllt, verfüttert. Im ganzen wurden 4 g β-Naphthoesäure verfüttert.

Verarbeitet wurde der Harn der beiden Versuchstage und des ersten Nachtages (3tägiger Harn). Die Vorbereitung der gesammelten Harne zur Ätherextraktion geschah in der bereits geschilderten Weise (S. 465). Die Ätherextraktion dauerte 4mal 12 Stunden.

Im Ätherextrakt waren reichlich Krystalle vorhanden. Die krystallinische Ausscheidung (A) und die ätherische Lösung (B) wurden getrennt verarbeitet.

A.. Die Menge der krystallinischen Ausscheidung betrug 1,2 g. Ihr Schmelzpunkt lag bei 148° (unkorr.). Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle zeigten sie bereits den für β-Naphthursäure angegebenen Schmelzpunkt von 168 bis 169°, mit der sie durch diese Mischprobe identifiziert wurden. Es wurden 0,54 g reine β-Naphthursäure erhalten.

B. Die ätherische Lösung lieferte nach Abdestillieren des Äthers einen Rückstand, der krystallinisch erstarrte. Er wurde durch Auskochen mit 200 ccm Wasser in einen in heißem Wasser leicht löslichen Anteil und einen in heißem Wasser schwer löslichen Anteil zerlegt.

Der in heißem Wasser leicht lösliche Anteil gab nach Erkalten der wässerigen Lösung eine krystallinische Ausscheidung, deren Menge 1,3 g betrug. Ihr Schmelzpunkt lag unscharf bei 128 bis 130° (unkorr.). Sie bestand aus einem Gemenge von β-Naphthoesäure und β-Naphthursäure. Zu ihrer Trennung wurde das Gemisch mit heißem Chloroform ausgekocht. Die Chloroformlösung ergab nach Abdestillieren des Chloroforms einen krystallisierten Rückstand, der aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert wurde. Es wurden so 0,7 g Substanz vom Schmelzpunkt 182° (unkorr.) erhalten, die die Eigenschaften der β-Naphthoesäure zeigten, mit der sie durch die Mischprobe identifiziert werden konnten.

Die in Chloroform unlöslichen Krystalle wurden aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert und die ausgeschiedene Substanz noch zweimal aus heißem Wasser umgelöst. Es wurden so 0,4 g Substanz gewonnen, die den Schmelzpunkt von 168 bis 169° (unkorr.) und die Eigenschaften der

β-Naphthursäure zeigten, mit der sie durch die Mischprobe identifiziert wurden.

Die wässerige Mutterlauge des auskrystallisierten Gemenges von β-Naphthoesäure und β-Naphthursäure wurde mit Kieselgur geklärt und das Filtrat eingeengt. Die konzentrierte Lösung wurde 3mal mit Chloroform und darauf 5mal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der Essigätherauszug lieferte nach Abdestillieren des Essigäthers 0,8 g Rückstand vom Schmelzpunkt 180 bis 182°. Er wurde in 50 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und zur Krystallisation eingedampft. Es wurden so 0,6 g Substanz erhalten, die den Schmelzpunkt von 187° (unkorr.) und die Eigenschaften der Hippursäure zeigten, mit der sie durch die Mischprobe identifiziert wurden.

Der in heißem Wasser schwer lösliche Anteil hatte den Schmelzpunkt 175° (unkorr.). Seine Menge betrug 1 g. Er wurde 2mal aus 350 ccm heißem Wasser umkrystallisiert und lieferte 0,9 g reine β-Naphthoesäure vom Schmelzpunkt 182° (unkorr.).

In diesem Versuche wurden nach Verfütterung per os von 4 g β-Naphthoesäure aus dem 3tägigen Harn 0,94 g β-Naphthursäure, 1,6 g β-Naphthoesäure und 0,6 g Hippursäure isoliert. Derselbe Hund hatte bei gleicher Ernährung in einer Vorperiode von 3 Tagen 0,679 g Hippursäure ausgeschieden. Die Hippursäure war nach dem von dem einen von uns beschriebenen Verfahren isoliert worden[1]).

Synthese der β-Naphthursäure.

β-Naphthursäure wurde durch Einwirkung von β-Naphthoylchlorid in ätherischer Lösung auf Glykokoll bei Gegenwart von Natronlauge dargestellt. β-Naphthoylchlorid war nach den Angaben von Vieth[2]) gewonnen.

2 g Glykokoll wurden in der für 1 Mol berechneten Menge Normal-Natronlauge gelöst und zu dieser Lösung 10 g β-Naphthoylchlorid, in der 10fachen Menge Äther gelöst, hinzugefügt. Das Gemisch wurde bei Zimmertemperatur in einer Stöpselflasche auf der Maschine geschüttelt, nach 1 Stunde wieder mit derselben Menge Normalnatronlauge versetzt und weiter geschüttelt.

[1]) E. Friedmann, diese Zeitschr. **35**, 54, 1911.
[2]) Vieth, Liebigs Ann. **180**, 319.

Nach einer weiteren Stunde wurde der Zusatz von Normalnatronlauge nochmals wiederholt. Nach 4stündigem Schütteln wurde das Gemisch in einen Scheidetrichter gegeben und die ätherische Schicht von der alkalisch-wässerigen Lösung getrennt. Die alkalische Lösung wurde filtriert und mit verdünnter Salzsäure übersättigt. Nach kurzem Stehen wurde der reichlich ausfallende, etwas gelb gefärbte, krystallinische Niederschlag abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen und auf Ton ausgestrichen. Seine Menge betrug 11,5 g. Er bestand aus einem Gemisch von β-Naphthoesäure und β-Naphthursäure.

Zu ihrer Trennung wurde die Krystallmasse mit Chloroform ausgekocht, wowei die β-Naphthoesäure in Lösung ging. Nach dem Erkalten wurde das Ungelöste abgesaugt und mit Chloroform ausgewaschen. Es blieb ein schneeweißes krystallinisches Produkt zurück, dessen Menge 5,2 g betrug. Sein Schmelzpunkt lag bei 165° (unkorr.). Nach einmaligem Umkrystallisieren aus 350 ccm heißem Wasser hatte es den Schmelzpunkt von 169 bis 170° (unkorr.), der sich bei weiterem Umlösen nicht mehr änderte. Es wurden 4,3 g reine β-Naphthursäure erhalten.

Aus den Chloroformauszügen schieden sich bei 24stündigem Stehen Krystalle ab, deren Menge 0,502 g betrug. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser wurden 0,38 g Substanz vom Schmelzpunkt 169 bis 170° (unkorr.) erhalten, die ebenfalls β-Naphthursäure waren. Die Ausbeute an β-Naphthursäure betrug 76,6% der Theorie.

Zur Analyse diente ein Präparat, das mehrfach aus heißem Wasser umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet war.

0,1512 g Substanz: CO_2 0,3792 g, H_2O 0,0669 g.
0,1740 g „ : N 9,00 ccm (16,5°, 762 mm).
$C_{18}H_{11}NO_3$. Ber.: C 68,12%, H 4,80%, N 6,11%.
Gef.: C 68,40%, H 4,94%, N 6,12%.

In einem zweiten Versuche wurden unter denselben Bedingungen aus 2,4 g Glykokoll und 11,3 g β-Naphthoylchlorid 6,5 g rohe und 5,68 g reine β-Naphthursäure erhalten. (Ausbeute 79% der Theorie.)

β-Naphthursäure krystallisiert in breiten, silberglänzenden Nadeln. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 169 bis 170° (unkorr.).

In Wasser ist sie in der Kälte schwer löslich, leicht löslich in der Wärme. Sie kann aus Wasser gut umkrystallisiert werden. In Methyl- und Äthylalkohol, in Aceton und Essigäther ist sie schon in der Kälte leicht löslich. Schwer löslich auch in der Wärme ist sie in Äther, Petroläther, Benzol, Toluol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

II. Fütterung von β-Naphthylessigsäure.

1. Darstellung von β-Naphthylessigsäure aus β-Naphthylbrenztraubensäure.

β-Naphthylessigsäure stellten wir anfänglich, solange das β-Methylnaphthalin nicht zugänglich war, durch Oxydation der von Kikkoji beschriebenen β-Naphthylbrenztraubensäure[1]) mittels Wasserstoffsuperoxyd in neutraler Lösung dar. Der zur Gewinnung von β-Naphthylbrenztraubensäure nötige β-Naphthaldehyd wurde nach dem Verfahren von Ladewig[2]) durch Destillation eines Gemisches von β-naphthoesaurem Kalk und ameisensaurem Kalk unter vermindertem Druck erhalten.

Als im Laufe unserer Versuche β-Methylnaphthalin wieder zugänglich wurde, gingen wir zur Darstellung der β-Naphthylessigsäure auf die Arbeitsweise von Kikkoji zurück, der β-Methylnaphthalin über Brom-β-Methylnaphthalin und β-Naphthylessigsäurenitril in β-Naphthylessigsäure umwandelte. Das Verfahren von Kikkoji gibt leichter und in besserer Ausbeute β-Naphthylessigsäure als die Oxydation der β-Naphthylbrenztraubensäure.

9 g β-Naphthylbrenztraubensäure wurden in der berechneten Menge Normal-Natronlauge gelöst, die Lösung mit 200 ccm 3%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt und 24 Stunden bei 33° stehen gelassen. Der beim Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure erhaltene Niederschlag, dessen Menge 7,4 g betrug, gab mit Eisenchlorid starke Ketonsäurereaktion und bestand aus einem Gemenge von β-Naphthylessigsäure und β-Naphthylbrenztraubensäure. Das Gemenge wurde in Normal-Natronlauge gelöst, nochmals mit 3%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt und die Lösung 24 Stunden bei 21° stehen gelassen.

---

[1]) T. Kikkoji, diese Zeitschr. **85**, 57, 1911.

[2]) Ladewig, Liebigs Annal. **379**, 353, 1911.

Der jetzt beim Ansäuern einer Probe mit verdünnter Schwefelsäure erhaltene Niederschlag erwies sich als frei von Ketonsäure. Zur Entfernung geringer Mengen während der Oxydation entstandenen und durch Geruch erkenntlichen β-Naphthaldehyds wurde die Reaktionsflüssigkeit mit Natronlauge alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Darauf wurde im Scheidetrichter mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und der ausfallende Niederschlag mit Äther aufgenommen. Dieser ätherische Auszug wurde über Natriumsulfat getrocknet und hinterließ nach Abdestillieren des Äthers und Vertreiben der letzten Ätherreste im Vakuum 4,1 g β-Naphthylessigsäure. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser hatte sie den für β-Naphthylessigsäure angegebenen Schmelzpunkt von 140° (unkorr.). Zur Analyse wurde sie im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1215 g Substanz: CO_2 0,3440 g, H_2O 0,0600 g.
$C_{12}H_{10}O_2$. Ber.: C 77,40%, H 5,38%.
Gef.: C 77,22%, H 5,52%.

2. Subcutane Verabfolgung von β-Naphthylessigsäure.

Einem Hunde von 9,4 kg, der täglich 0,5 kg gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 1,6 g β-Naphthylessigsäure, die in 8,5 ccm Normal-Natronlauge, 1,5 ccm Wasser und 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst waren, unter die Haut gespritzt.

Verarbeitet wurde der Harn der beiden Versuchstage und des ersten Nachtages.

Der Harn der Versuchsperiode wurde zum dünnen Sirup eingeengt und dieser wiederholt mit 93%igem Alkohol in der Wärme extrahiert. Der nach Abdampfen des Alkohols erhaltene Rückstand wurde in 200 ccm Wasser aufgenommen, die Lösung mit 100 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und viermal 12 Stunden im Extraktionsapparat mit Äther extrahiert. Der ätherische Auszug wurde vom Äther durch Destillation befreit und der erhaltene Rückstand in 100 ccm Wasser in der Wärme gelöst. Dabei blieben geringe Mengen einer öligen Substanz ungelöst. Die wässerige Flüssigkeit wurde mit 5 ccm 25%iger Phosphorsäure versetzt und mit Essigäther 5 mal ausgeschüttelt. Nach Abdestillieren des Essigäthers wurde der Rückstand in 75 ccm Wasser suspendiert, mit Sodalösung schwach alkalisch

gemacht und mit Chloroform 3 mal ausgeschüttelt. Dieser Chloroformauszug wurde vernachlässigt. Die wässerige Flüssigkeit wurde jetzt mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und die ölige Ausscheidung durch 5maliges Ausschütteln mit Chloroform der wässerigen Flüssigkeit entzogen (Chloroformauszug). Darauf wurde die wässerige Lösung 5 mal mit Essigäther ausgeschüttelt (Essigätherauszug).

Der Chloroformauszug hinterließ nach Abdestillieren des Chloroforms einen Sirup, der rasch krystallinisch erstarrte. Seine Menge betrug 1,9 g. Er wurde in verdünnter Sodalösung in der Wärme gelöst und die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Hierbei fielen 1,45 g eines krystallinischen Niederschlages aus, der nach zweimaligem Umlösen aus Wasser den für die β-Naphthylessigsäure angegebenen Schmelzpunkt von 140° (unkorr.) hatte. Die Mischprobe der aus dem Harn isolierten Substanz mit synthetisch dargestellter β-Naphthylessigsäure ergab die Identität der beiden Substanzen.

Bei der Analyse des im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Produkts wurden die für β-Naphthylessigsäure verlangten Zahlen erhalten.

0,1302 g Substanz: CO_2 0,3695 g, H_2O 0,0645 g.
$C_{12}H_{10}O_2$. Ber.: C 77,4%, H 5,38%.
Gef.: C 77,4%, H 5,54%.

Der Essigätherauszug lieferte 0,345 g Hippursäure vom Schmelzpunkt 187° (unkorr.).

In einer dreitägigen Vorperiode hatte derselbe Hund bei gleicher Ernährung 0,310 g Hippursäure ausgeschieden. Die Hippursäure war nach dem von dem einen von uns beschriebenen Verfahren[1]) aus dem Harn isoliert worden.

3. Fütterung von β-Naphthylessigsäure per os.

Einem Hunde von 5,3 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden 2 g β-Naphthylessigsäure, die mit Natriumbicarbonat neutralisiert waren, in 50 ccm Wasser mittels Schlundsonde eingegeben. Am nächsten Tag erhielt der Hund 2 g β-Naphthylessigsäure als Natriumsalz, in Fleischstückchen eingewickelt, unter das Futter gemischt.

Verarbeitet wurde der Harn der beiden Versuchstage und

[1]) E. Friedmann, diese Zeitschr. **85**, 54, 1911.

des ersten Nachtages (dreitägiger Harn). Die Vorbehandlung der gesammelten Harne zur Ätherextraktion geschah in der bereits angegebenen Weise (S. 465). Die Ätherextraktion dauerte 4 mal 12 Stunden.

Die Aufarbeitung des Ätherextrakts wurde in der im vorigen Versuch beschriebenen Weise vorgenommen. Hierbei lieferte der Chloroformauszug 0,27 g β-Naphthylessigsäure vom Schmelzpunkt 140° (unkorr.), die durch die Mischprobe identifiziert wurden. Der Essigätherauszug ergab 0,19 g Hippursäure vom Schmelzpunkt 187° (unkorr.).

Derselbe Hund hatte in einer dreitägigen Vorperiode 0,156 g Hippursäure bei gleicher Ernährung wie in der Fütterungsperiode ausgeschieden.

III. Fütterung von β-Naphthylbrenztraubensäure.

β-Naphthylbrenztraubensäure wurde nach den Angaben von Kikkoji[1]) dargestellt. Von ihrer Reinheit überzeugten wir uns durch Titration der Substanz in wässerig-alkoholischer Lösung mit $^n/_{10}$-Natronlauge unter Benutzung von Phenolphthalein als Indicator.

0,1313 g Substanz.	Gef.:	5,99 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge.
	Ber.:	6,14 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge.
0,1340 g Substanz.	Gef.:	6,00 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge.
	Ber.:	6,26 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge.

1. Subcutane Verabfolgung von β-Naphthylbrenztraubensäure.

1. Fütterungsversuch. Einem Hunde von 11 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an zwei aufeinander folgenden Tagen je 2 g β-Naphthylbrenztraubensäure, die mit 0,8 g Natriumbicarbonat neutralisiert waren, in 80 ccm Wasser unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 4 g β-Naphthylbrenztraubensäure verfüttert.

Verarbeitet wurde der Harn der beiden Versuchstage und des ersten Nachtages (dreitägiger Harn). Die Vorbereitung der gesammelten Harne zur Ätherextraktion geschah in der in den vorigen Versuchen geschilderten Weise. Die Ätherextraktion dauerte 4 mal 12 Stunden.

[1]) T. Kikkoji, l. c.

Die Aufarbeitung des Ätherextrakts wurde in derselben Art vorgenommen, wie sie für die Verarbeitung des Ätherextrakts nach Verfütterung von β-Naphthylessigsäure angegeben ist. Aus dem Chloroformauszug wurden 0,5 g **β-Naphthylessigsäure** vom Schmelzpunkt 140° (unkorr.) isoliert, die durch die Mischprobe identifiziert wurden. Aus dem Essigätherauszug wurden 0,701 g **Hippursäure** gewonnen.

Derselbe Hund hatte bei gleicher Ernährung in einer dreitägigen **Vorperiode** 0,675 g Hippursäure ausgeschieden.

2. **Fütterungsversuch.** Einem Hunde von 5,3 kg, der täglich 0,5 kg gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden an zwei aufeinander folgenden Tagen je 1,5 g β-Naphthylbrenztraubensäure, die mit Natriumcarbonat neutralisiert waren, in 50 ccm Wasser unter die Haut gespritzt. Im ganzen wurden 3 g β-Naphthylbrenztraubensäure injiziert.

Aus dem Harn der Versuchstage und des ersten Nachtages (dreitägiger Harn) wurden 0,381 g **β-Naphthylessigsäure** vom Schmelzpunkt 140° (unkorr.) isoliert, die durch die Mischprobe identifiziert wurden. Die **Hippursäureausscheidung** betrug 0,312 g.

Derselbe Hund hatte bei gleicher Ernährung in einer dreitägigen **Vorperiode** 0,249 g Hippursäure ausgeschieden.

2. **Fütterung von β-Naphthylbrenztraubensäure per os.**

Einem Hunde von 7,5 kg, der täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden am ersten Fütterungstage 1,7 g freie β-Naphthylbrenztraubensäure und am zweiten Tage 1,7 g β-Naphthylbrenztraubensäure, die in das Natriumsalz übergeführt war, in Fleischstückchen eingewickelt, unter das Futter gemischt. Im ganzen wurden 3,4 g β-Naphthylbrenztraubensäure verfüttert.

Aus dem Harn der Versuchstage und des ersten Nachtages (dreitägiger Harn) wurden 0,301 g **β-Naphthylessigsäure** vom Schmelzpunkt 140° (unkorr.) erhalten, die durch die Mischprobe identifiziert wurden. Die Menge der isolierten **Hippursäure** betrug 0,950 g.

Derselbe Hund hatte bei gleicher Ernährung in einer dreitägigen **Vorperiode** 0,506 g Hippursäure ausgeschieden.

Über β-Naphthalanin-hydantoinsäure.

Von

W. Türk.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

T. Kikkoji[1]) hat nach Verfütterung von β-Naphthalanin an Hunde aus dem Harn der Versuchstiere eine Substanz isoliert, der er die Formel $C_{15}H_{16}N_2O_3$ zugeschrieben hat. Die analytischen Daten stimmen zwar ziemlich gut mit dieser Formel überein, jedoch entfernen sich auch die für die Uraminosäure des β-Naphthalanins $C_{14}H_{14}N_2O_3$ verlangten Zahlen nicht allzu weit von den von Kikkoji erhaltenen Werten:

$C_{15}H_{16}N_2O_3$.	Ber.:	C 66,15%, H 5,93%, N 10,23%.
$C_{14}H_{14}N_2O_3$ (Uraminosäure)	Ber.:	C 65,07%, H 5,46%, N 10,78%.
	Gef.:	C 66,24%, H 5,99%, N 10,11%.
	Gef.:	C 65,95%, H 6,53%, N 9,90%.

Da neuere Untersuchungen gezeigt haben, daß Uraminosäuren mit Leichtigkeit beim Eindampfen der wässerigen Lösung von Aminosäuren bei Gegenwart von Harnstoff entstehen[2]) und bei der Aufarbeitung der nach Verfütterung von β-Naphthalanin erhaltenen Harne durch Kikkoji die Möglichkeit einer Bildung von Uraminosäure aus unverändertem β-Naphthalanin und Harnstoff zu berücksichtigen ist, habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. E. Friedmann die Uraminosäure des β-Naphthalanins dar-

---

[1]) T. Kikkoji, diese Zeitschr. **35**, 57, 1911.

[2]) Fr. Lippich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 2953, 1906 u. **41**, 2953, 1908. — H. D. Dakin, Journ. of biol. Chem. 8, 25, 1910. — Walter Weinland, diese Zeitschr. **38**, 285, 1912. — Embden und Schmitz, diese Zeitschr. **38**, 393, 1912. — Kura Kondo, diese Zeitschr. **38**, 407, 1912.

gestellt, um sie mit der nach Verfütterung des β-Naphthalanins von Kikkoji erhaltenen Substanz zu vergleichen. Ich habe mich aus äußeren Gründen nur des ersten Teiles dieser Aufgabe entledigen können und berichte im folgenden über die Darstellung und die Eigenschaften der β-Naphthalanin-hydantoinsäure.

Die Darstellung der β-Naphthalanin-hydantoinsäure versuchte ich anfangs durch Einwirkung von Kaliumcyanat auf β-Naphthalanin; jedoch gelang es mir nicht, hierbei die gesuchte Säure zu erhalten. Aus 2 g zur Reaktion verwendetem β-Naphthalanin wurden 1,8 g unveränderte Substanz zurückgewonnen. Dagegen konnte ich mühelos nach der von Lippich[1]) benutzten Methode durch Einwirkung von Harnstoff auf β-Naphthalanin bei Gegenwart von Barythydrat β-Naphthalanin-hydantoinsäure darstellen. Die von mir erhaltene β-Naphthalanin-hydantoinsäure schmilzt unter Zersetzung bei 194 bis 195°, während Kikkoji für die aus dem Harn nach Verfütterung von β-Naphthalanin isolierte Substanz einen Zersetzungspunkt von 190° angibt. Einen direkten Vergleich der Substanz von Kikkoji mit β-Naphthalanin-hydantoinsäure habe ich bisher aus Mangel an Material nicht ausführen können.

Darstellung von β-Naphthalanin-hydantoinsäure.

1. Einwirkung von Kaliumcyanat auf β-Naphthalanin.

2 g β-Naphthalanin, die nach den Angaben von Kikkoji dargestellt waren, wurden in 20 ccm Wasser suspendiert und durch Erwärmen mit 50 ccm Normal-Schwefelsäure in Lösung gebracht. Die rasch abgekühlte Lösung wurde allmählich mit 4 g Kaliumcyanat in 20 ccm Wasser versetzt; hierbei schied sich eine Substanz krystallinisch aus. Nach beendetem Zusatz der Kaliumcyanatlösung war die Reaktion schwach alkalisch. Es wurden jetzt nochmals 75 ccm Normal-Schwefelsäure hinzugefügt und die Lösung wieder mit 4 g Kaliumcyanat in 20 ccm Wasser versetzt. Nach 24stündigem Stehen wurde der gebildete Niederschlag abgesaugt und zuerst mit Wasser, darauf mit Alkohol und Äther ausgewaschen. Seine Menge betrug

[1]) Fr. Lippich, l. c.

1,8 g, der Zersetzungspunkt der Substanz lag bei 257° (unkorr.). Sie bestand ausschließlich aus unverändertem β-Naphthalanin.

2. Einwirkung von Harnstoff auf β-Naphthalanin.

1,8 g β-Naphthalanin wurden in 250 ccm einer siedenden, 5%igen Barytlösung eingetragen. Nachdem die Substanz vollständig in Lösung gegangen war, wurde die Flüssigkeit mit 5 g Harnstoff versetzt und das Reaktionsgemisch 4 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach Hinzufügen von 50 ccm Wasser wurde der überschüssige Baryt durch Einleiten von Kohlensäure entfernt. Das ausgefällte Bariumcarbonat wurde abgesaugt und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht, wobei das im Alkohol schwer lösliche Bariumsalz der β-Naphthalanin-hydantoinsäure ungelöst blieb. Dieses wurde abgesaugt, mit Alkohol ausgewaschen, darauf in wenig Wasser gelöst und die Lösung mit Salzsäure versetzt. Die hierbei auftretende krystallinische Fällung wurde gesammelt und über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Ihre Menge betrug 0,5 g. Die Mutterlauge dieser Krystallisation wurde eingeengt, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und die Lösung mit Salzsäure angesäuert. Hierbei schieden sich 0,35 g Substanz aus, die mit der ersten Krystallisation identisch war. Sie wurde mit dieser vereinigt.

Zur Reinigung wurden die erhaltenen 0,85 g Substanz in 255 ccm Wasser in der Siedehitze gelöst. Hierbei blieb ein geringer Teil ungelöst. Dieser wurde in der Siedehitze abfiltriert und nochmals mit 100 ccm Wasser ausgekocht. Auch jetzt blieb ein geringer Teil ungelöst. Nach Filtration der geringen Menge ungelöster Substanz wurden die vereinigten Filtrate zur Krystallisation aufgestellt. Die nach 48 Stunden ausgefallene β-Naphthalanin-hydantoinsäure wurde abgesaugt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ihre Menge betrug 0,64 g.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° getrocknet. Sie enthält kein Krystallwasser.

0,1161 g Substanz: CO_2 0,2775 g, H_2O 0,0577 g.
0,1929 g Substanz: N 18,1 ccm (17°, 750 mm).

$C_{14}H_{14}O_3N_2$. Ber.: C 65,11%, H 5,46%, N 10,86%.
Gef.: C 65,19%, H 5,56%, N 10,87%.

Die β-Naphthalanin-hydantoinsäure krystallisiert in feinen verfilzten Nadeln mit schräg abgestumpften Ecken. Sie schmilzt unter Zersetzung zwischen 194 und 195° (unkorr.). Sie ist wenig löslich in kaltem Wasser, löst sich jedoch leicht in siedendem Wasser. Methyl- und Äthylalkohol lösen die Substanz leicht auch in der Kälte. In Aceton und Äther ist die Substanz schwer löslich. Sie ist nicht löslich auch in der Wärme in Essigäther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Toluol und Petroläther.

Bei einer zweiten Darstellung wurden unter denselben Bedingungen aus 1 g β-Naphthalanin und 2,77 g Harnstoff 0,77 g β-Naphthalanin-hydantoinsäure vom Zersetzungspunkt 194° und 195° erhalten.

Zur Frage nach der Rolle der Fermente im tierischen Organismus bei Einführung getöteter Tuberkelbacillen.

Von

Nina Kotschneff.

(Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 26. August 1913.)

Um den Zusammenhang zwischen Infektion resp. Intoxikation und der fermentativen Tätigkeit im Organismus aufzuklären, war es von Interesse, den Einfluß getöteter Tuberkelbacillen auf fermentative Prozesse experimentell an Tieren zu studieren.

Die Beobachtungen einer ganzen Reihe von Forschern zeigen, daß nicht nur lebendige, sondern auch (durch hohe Temperaturen oder chemische Wirkungen) getötete Tuberkelbacillen bedeutende Störungen hervorrufen können, ausgedrückt einerseits durch pathologisch-anatomische Veränderungen, andererseits durch Intoxikationserscheinungen.

Wir wissen, daß getötete Tuberkelbacillen bei Einführung in den Organismus zur Entstehung von Knoten mit Riesenzellen führen (Prudden, Abel, Gamaleia, Kostewitsch, Krampechir, Engelhardt u. a.) und das Bild einer chronischen Intoxikation mit Kachexie und Abmagerung geben und zu Marasmus führen können.

Clerc[1]) untersuchte Sera von Tuberkulösen und fand bei Menschen, Hunden und Kaninchen eine Abnahme des Fettspaltungsvermögens und der amylolytischen Energie, die in schweren Fällen sehr bedeutend war. Carrière[2]) bestätigte diesen Befund (Abnahme des Fettspaltungsvermögens) und berichtet, daß bei Behandlung seiner Patienten mit Natriumkakodylat eine Zunahme der Lipase stattfand. Nach den Beobachtungen Garniers[3]) ist bei akuter Tuberkulosis, die sich bei relativ gesunden

[1]) Contribution à l'étude de quelques ferments solubl. du sérum sang. Paris 1902.

[2]) Variations de la lipase à l'état norm. et patholog. Compt. rend. Soc. Biol. **51**, 989.

[3]) Compt. rend. Soc. Biol. **55**.

Menschen entwickelt, das Fettspaltungsvermögen des Serums gesteigert, bei chronischer dagegen geschwächt, und entspricht der Dauer der Krankheit und dem allgemeinen Zustand des Leidenden und steigt bei Besserung wieder. Pfibram[1]) fand bei miliarer Tuberkulosis das Fettspaltungsvermögen des Serums geschwächt. Grineff[2]) fand bei chronischer Tuberkulosis der Meerschweinchen das Fettspaltungsvermögen in allen Organen und Geweben geschwächt, während andere intracelluläre Fermente (Katalase, Amylase, Nuclease) in einigen Organen vermindert, in anderen vermehrt waren. Jolles[3]) fand den Katalasegehalt des Blutes bei Tuberkulosis der Menschen bedeutend herabgesetzt.

Auf Vorschlag von Frau N. Sieber untersuchte ich den Einfluß injizierter getöteter Tuberkelbacillen auf die fermentativen Prozesse im Serum und in den Organen von Kaninchen und Meerschweinchen. Die Fermente: Lipase, Amylase, Diastase, Nuclease und außerdem das Antitrypsin wurden bei jedem Versuchstier im Serum, Katalase in defibriniertem Blut bestimmt.

Das Blut wurde bei Kaninchen aus der Vena marg. des Ohres, bei Meerschweinchen mit der Spritze aus dem Herzen erhalten.

Nachdem die Tiere nach der ersten Blutentnahme zur ersten Fermentuntersuchung vor Injektion der Tuberkelbacillen sich ca. 14 Tage erholt hatten, wurde ihnen eine Emulsion, die auf je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung 4 Platinösen getöteter Tuberkelbacillen ($^3/_4$stündiges Erhitzen bei 80°) enthielt, in die Bauchhöhle einverleibt, und zwar einem jeden Kaninchen 2 ccm, einem jeden Meerschweinchen 1 ccm. Die Fermente wurden im Blute resp. Serum bei allen Tieren ca. alle 14 Tage bestimmt. Zur Kontrolle dienten zwei gesunde Kaninchen, die bei derselben Nahrung und in denselben Verhältnissen ca. alle 14 Tage auf ihren Fermentgehalt untersucht wurden.

Die Injektion getöteter Tuberkelbacillen führte in unseren Versuchen niemals zu einem letalen Ende. Die Kaninchen verloren in den ersten 4 bis 6 Wochen wohl an Gewicht, nahmen aber später wieder zu; bei Meerschweinchen dagegen wurde eine dauernde Gewichtsabnahme konstatiert. Im Gehalt des Hämoglobins, der Erythrocyten und Leukocyten fanden im Blute keine wesentlichen Veränderungen statt. Die Zahl

[1]) Centralbl. f. inn. Med. 29.
[2]) Arch. des sciences biol. 17, 1911.
[3]) Fortschr. d. Med. 22.

der Erythrocyten fiel im allgemeinen von 51 Millionen auf 49 Millionen bei 85% Hämoglobin statt der früheren 90%; die Zahl der Leukocyten blieb im allgemeinen unverändert, hin und wieder etwas höher oder niedriger als vor der Blutentnahme.

Nach mehreren Fermentuntersuchungen wurden die Tiere durch Blutentnahme getötet.

Zur Methodik.

Das Fettspaltungsvermögen des Serums und der Organe wurde aus der aus einer gesättigten Monobutyrinlösung durch Fermentwirkung bei 4-Stunden-Thermostatversuchen (37°) freigesetzten Buttersäuremenge durch Titrieren mit $^{n}/_{100}$-KOH und Phenolphthalein berechnet. Ein jeder Versuchskolben war von einem Kontrollkolben mit inaktiviertem Ferment begleitet, dessen Inhalt in derselben Weise titriert wurde.

In den Organen wurde das Fettspaltungsvermögen außerdem auch stalagmometrisch in 4-Stunden-Thermostatversuchen (37°) bestimmt.

Der Katalasegehalt wurde nach der Kaliumpermanganatmethode in 15-Minuten-Thermostatversuchen (37°) bestimmt.

Die Amylase bestimmten wir in 24-Stunden-Thermostatversuchen (37°) nach Wohlgemuth.

Die Diastase wurde in 24-Stunden-Thermostatversuchen (37°) aus der, durch Fermentwirkung aus Stärkelösung entstandenen, nach Bertrand bestimmten Zuckermenge berechnet.

Die Nuclease wurde im Serum und in den Organen in 24-Stunden-Thermostatversuchen (37°) nach der optischen Methode bei Nernstlicht mit Kaliumbichromatfilter in Beobachtungsröhren von 100 mm bestimmt.

Das Serum mit der Hefenucleinnatriumlösung wurde möglichst steril mit einem geringen Chloroformzusatz direkt im Beobachtungsrohr für 24 Stunden in den Thermostaten gestellt, und der Drehungswinkel im Anfang und nach Verlauf der 24 Stunden bestimmt.

Da die Organextrakte bei 24-Stunden-Versuchen eine bedeutende Trübung geben, wurden dieselben dauernd zentrifugiert und in der doppelten Menge mit der Nucleinnatriumlösung in einem sterilen Kolben mit einem geringen Chloroform-

zusatz versetzt; die eine Hälfte des Kolbeninhalts wurde sofort in das Beobachtungsrohr gegossen und der Drehungswinkel bestimmt; der Kolben mit der zweiten Hälfte der Ferment- und Nucleinnatriumlösung wurde für 24 Stunden in den Thermostaten gestellt, dann wieder dauernd zentrifugiert, in das Beobachtungsrohr gegossen und der Drehungswinkel bestimmt.

Das Antitrypsin wurde nach Wohlgemuth bestimmt.

Tabelle I.

Lipase im Kaninchenserum.

(Die Zahlen bedeuten die Kubikzentimeter KOH-Lösung, die zur Neutralisation der durch 1 ccm Serum freigesetzten Buttersäure erforderlich waren.)

	Erste Ferment-untersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Normales Kontroll-Kan. VI	20,0	20,8	20,8			
VII	19,2	19,2	19,2			
Im Durchschnitt	19,6	20,0	20,0			
Versuchs-Kan. I	18,8	13,6	12,8	12,8	12,8	12,0
II	19,2	14,2	13,6	12,8	11,2	
III	19,2	14,4	9,6	11,2	12,8	
IV	18,8	16,8	16,0			
V	19,2	16,0	12,8			
Im Durchschnitt	19,2	15,0	12,96	12,26	12,26	
Abnahme des Fettspaltungsvermögens um		21,8%	32,5%	36,1%	36,1%	

Tabelle II.

Lipase im Meerschweinchenserum.

(Bedeutnng der Zahlen s. Tab. I.)

	Erste Ferment-untersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	56 Tage	70 Tage
		nach der ersten Injektion			
Meerschw. I	19,2	17,6	16,8	16,8	16,0
II	18,4	13,6	12,8	12,0	
III	16,0	15,2	14,4		
IV	20,0	17,6	17,6		
V	20,8	18,4	16,8		
VI	18,4	16,8	15,2		
VII	17,6	16 8	16,0		
VIII	19,2	17,6	16,8		
Im Durchschnitt	18,7	16,7	15,8		
Abnahme des Fettspaltungsvermögens um		10,6%	15,5%		

Betrachten wir die Tabellen I und II, so sehen wir das Fettspaltungsvermögen des Serums bei Kaninchen und Meerschweinchen geschwächt, und zwar am stärksten in den ersten 14 Tagen nach der ersten Injektion. Bei normalen Kontrollkaninchen bleibt das Fettspaltungsvermögen während der ganzen Zeit unverändert.

Im Katalasegehalt des Blutes bei Kaninchen sehen wir keine wesentlichen Veränderungen (Tabelle III), bei Meerschweinchen dagegen eine im Laufe der ganzen Versuchszeit stattfindende Abnahme (Tabelle IV).

Tabelle III.

Katalase im Kaninchenserum.

(Die Zahlen bedeuten die durch 1 ccm defibriniertes Blut zersetzte Wasserstoffsuperoxydmenge in Gramm.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Kontroll-Kan. VI	16,6	16,1	16,9			
VII	18,2	17,9	17,6			
Im Durchschnitt	17,4	17,0	17,2			
Versuchs-Kan. I	15,6	14,7	15,5	15,0	15,8	14,8
II	16,5	16,3	17,0	16,8	15,4	
III	15,5	15,2	17,6	17,4	17,2	
IV	18,0	17,9	16,5			
V	17,6	17,7	18,2			
Im Durchschnitt	16,64	16,36	16,96	16,4	16,13	

Tabelle IV.

Katalase im Meerschweinchenserum.

(Bedeutung der Zahlen s. Tab. III.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	56 Tage	70 Tage
		nach der ersten Injektion			
Meerschw. I	12,8	12,4	10,7	11,5	11,3
II	16,9	11,8	9,4	10,7	
III	13,7	11,3	12,4		
IV	16,4	14,8	11,5		
V	17,1	14,2	12,8		
VI	16,3	16,1	16,9		
VII	16,6	16,4	14,8		
VIII	17,4	14,8	13,1		
Im Durchschnitt	15,9	13,9	12,7	11,1	
Abnahme des Katalasegehalts um		12,5%	20,1%	30,1%	

Tabelle V.

Antitrypsin im Kaninchenserum.

(Die Zahlen bedeuten die 1 ccm Serum entsprechenden Antitrypsineinheiten.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Kontroll-Kan. VI	166	166	166			
VII	166	166	166			
Im Durchschnitt	166	166	166			
Versuchs-Kan. I	125	166	166	250	333	500
II	166	250	333	333	500	
III	125	166	250	333	500	
IV	166	333	500			
V	125	250	333			
Im Durchschnitt	141	233	316	305	444	
Zunahme um		64,7%	123,7%	115,9%	214,2%	

Tabelle VI.

Antitrypsin im Meerschweinchenserum.

(Bedeutung der Zahlen s. Tab. V.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	56 Tage	70 Tage
		nach der ersten Injektion			
Meerschw. I	166	250	500	500	
II	166	250	500	500	
III	250	250	500		
IV	250	333	500		
V	333	500	500		
VI	250	500	500		
VII	250	500	500		
VIII	250	500	1000		
Im Durchschnitt	239	385	562		
Zunahme um		61%	135%		

Das Antitrypsin des Serums sehen wir bei Kaninchen und Meerschweinchen gesteigert (Tabelle V und VI).

Im Amylase- und Diastasegehalt des Serums sehen wir bei Kaninchen eine etwas größere, bei Meerschweinchen eine unbedeutende Abnahme beider Fermente (Tabelle VII bis X).

Die Nuclease konnte wegen Mangels an Material, resp. an Meerschweinchenserum, leider nur im Kaninchenserum bestimmt werden und gab eine allmähliche, obwohl ziemlich geringe Steigerung.

Tabelle VII.

Amylase im Kaninchenserum.

(Die Zahlen bedeuten die Kubikzentimeter der 1%igen Stärkelösung, die durch 1 ccm Serum in Erythrodextrin verwandelt werden.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Kontroll-Kan. VI	39	39	39			
VII	50	50	50			
Im Durchschnitt	44,5	44,5	44,5			
Versuchs-Kan. I	60	39	39	39	39	39
II	39	39	39	39	39	
III	62,5	39	39	39	39	
IV	39	39	39			
V	39	39	39			
Im Durchschnitt	47,9	39	39	39	39	
Abnahme um		18,5%	18,5%	18,5%	18,5%	

Tabelle VIII.

Amylase im Meerschweinchenserum.

(Bedeutung der Zahlen s. Tab. VII.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	56 Tage	70 Tage
		nach der ersten Injektion			
Meerschw. I	325	200	200	200	200
II	200	125	125	200	
III	200	200	200		
IV	200	200	200		
V	200	200	200		
VI	125	125	125		
VII	125	125	125		
VIII	200	200	200		
Im Durchschnitt	195,3	171,8	171,8		
Abnahme um		12%	12%		

Bei der Sektion der durch Entblutung getöteten Tiere wurde das subcutane Fettpolster bei Kaninchen sogar nach verhältnismäßig großer Gewichtsabnahme noch sehr reichlich entwickelt gefunden; Meerschweinchen zeigten keine derartigen Fettpolster. Herz und Lunge erschienen bei Kaninchen sowie auch bei Meerschweinchen unverändert.

Die größten Veränderungen wurden am Pankreas beobachtet und bestanden in bedeutenden Fettablagerungen und in einer allgemeinen Degeneration des Organs mit 3 bis 6 makroskopisch sichtbaren erbsengroßen Knoten, die mit einem

Tabelle IX.

Diastase im Kaninchenserum.

(Die Zahlen bedeuten die Milligramm Glucose, die aus 10 ccm $^1/_2$ %iger Stärkelösung durch 1 ccm Serum gebildet werden.)

	Erste Ferment-untersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Kontroll-Kan. VI	70	70	65			
VII	65	65	65			
Im Durchschnitt	67,5	67,5	65			
Versuchs-Kan. I	90	70	60	60	60	65
II	60	50	60	60	60	
III	110	65	60	60	60	
IV	65	60	60			
V	60	60	60			
Im Durchschnitt	77	61	60	60	60	
Abnahme um		20,7%	22%	22%	22%	

Tabelle X.

Diastase im Meerschweinchenserum.

(Bedeutung der Zahlen s. Tab. IX.)

	Erste Ferment-untersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	56 Tage	70 Tage
		nach der ersten Injektion			
Meerschw. I	205	190	170	180	180
II	215	140	160	190	
III	190	160	190		
IV	180	170	180		
V	170	170	180		
VI	140	130	140		
VII	140	140	140		
VIII	140	130	140		
Im Durchschnitt	172,5	153,7	161,2		
Abnahme um		10,8%	6,5%		

detritartigen Inhalt gefüllte, bindegewebige Kapseln bildeten; mikroskopisch wurden viele Eiterzellen, stellenweise veränderte, in Klumpen zusammengeballte, offenbar tote Tuberkelbacillen gefunden, da sie auf Kartoffel kein Wachstum zeigten und Meerschweinchen, denen eine aus diesen Knoten hergestellte Emulsion einverleibt wurde, nicht eingingen. Bei einigen Tieren blieben die übrigen Organe unverändert, bei anderen wurden kleinere Knoten im Mesenterium, zwischen den Leberlappen und im Bauchfell gefunden. Leber, Milz, Niere und Nebennieren hatten normales Aussehen.

Tabelle XI.

Nuclease im Kaninchenserum.

(Die Zahlen bedeuten die Differenz des abgelesenen Winkels vor und nach dem 24-Stunden-Versuch bei 0,5 ccm Serum und 10 ccm 2%iger Nucleinnatriumlösung.)

	Erste Fermentuntersuchung vor Injektion	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Kontroll-Kan. VI	0,82	0,81	0,82			
VII	0,85	0,84	0,84			
Im Durchschnitt	0,84	0,82	0,83			
Versuchs-Kan. I	0,55	0,68	0,75	0,75	0,78	0,82
II	0,66	0,73	0,81	0,82	0,82	
III	0,48	0,65	0,75	0,75	0,78	
IV	0,64	0,76	0,81			
V	0,72	0,78	0,81			
Im Durchschnitt	0,61	0,72	0,78	0,77	0,79	
Zunahme um		18%	28,8%	26,2%	29,5%	

Das Gewicht der Kaninchen in Gramm.

	Im Anfang vor Blutentnahme	14 Tage	28 Tage	42 Tage	70 Tage	120 Tage
		nach der ersten Injektion				
Versuchs-Kan. I	2595	2480	2240	2380	2387	2392
II	2638	2490	2460		2590	
III	2740	2480	2410		2490	
IV	1995	1940	1980		2150	
V	1722	1690	1780		1902	
Kontroll-Kan. VI	3000	2950	2955		2960	
VII	3100	2850	2830		2862	3000

Das Gewicht der Meerschweinchen in Gramm.

Meerschw. I	950	865	720	688	680	
II	680	632	638	585	582	
III	700	612	560	540	505	
IV	540	512	503	490		
V	555	523	508	480		
VI	343	320	312	305		
VII	312	300	296	291		
VIII	365	340	338	335		

Bestimmung der Fermente in den Organen.

Zu diesem Zweck wurden die Organe möglichst steril isoliert, zerkleinert und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure 24 Stunden getrocknet, dann in einen zweiten Vakuumexsiccator über Chlorcalcium übertragen und 24 bis 48 Stunden nachgetrocknet. Aus diesen, im sterilen Mörser verriebenen, 5 bis 6% Wasser enthaltenden, trocken genannten Organen wurden dann

24-Stunden-Extrakte in physiologischer Kochsalzlösung (1:50) zu Fermentbestimmungen hergestellt. Eines Unfalls wegen konnten die Organe bei 2 Kaninchen und 4 Meerschweinchen nicht untersucht werden.

Tabelle XII.

Lipase in Kaninchenorganen.

(Titriermethode.)

(Die Zahlen [deren Bedeutung s. Tab. I] sind auf 1 g trockenes Organ berechnet.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Knochenmark	Muskel
Gesundes Kontroll-Kan. VI .	232	188	220	112	148	60	40	104	68
Versuchs-Kan. I	168	144	184	92	92	56	32	64	56
IV	164	176	204	56	124	56	32	96	60
V	188	172	208	96	132	40	36	64	56
Im Durchschnitt	173,3	164	198,6	81,3	116	50,6	33,3	74,6	57,3
Abnahme d. Fettspaltungsvermögens um .	25,3%	15,5%	9,7%	27,4%	21,6%	14%	16,7%	28,2%	15,7%

Stalagmometrische Bestimmung der Lipase in denselben Organen.

(1 ccm Organextrakt + 30 ccm gesättigte Monobutyrinlösung + 1 ccm Phosphatgemisch. Die Zahlen bedeuten die Tropfenzahl, die nach 4-Stunden-Thermostatversuchen (37°) der Tropfenzahl 100 im Anfang entsprechen.)

Kontr.-Kan. VI	90,3	92,4	90,9	95,5	94,4	96,8	98,8	95,8	97,5
Versuchs-Kan. I	94,4	95,5	92,4	97,5	97,9	99,0	98,8	96,8	98,9
IV	94,4	93,4	91,7	98,2	95,8	99,0	98,8	96,2	97,2
V	92,4	94,5	91,5	97,2	95,5	98,9	99,0	97,2	94,4
Im Durchschnitt	93,7	94,4	91,8	97,6	97,0	98,9	98,8	96,7	96,8

Tabelle XIII.

Lipase in Meerschweinchenorganen.

(Titriermethode.)

(Bedeutung der Zahlen s. Tab XII.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Muskel
Normales Meerschweinchen .	244	204	164	228	196	96	60	84
I	232	192	152	208	148	84	54	64
IV	164	178	148	192	104	68	60	68
VII	148	168	140	148	144	72	60	60
VIII	152	140	156	144	178	64	54	64
Im Durchschnitt .	174	169,5	149	173	143,5	72	57	64
Abnahme d. Fettspaltungsvermögens um	28,6%	16,9%	9,1%	24,5%	26,7%	25%	5%	23,9%

Tabelle XIII (Fortsetzung).

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Muskel
Stalagmometrische Bestimmung der Lipase.								
Normales Meerschweinchen .	81,1	88,6	96,2	90,3	94,9	95,8	96,8	97,2
I	90,0	94,5	95,5	90,3	94,4	97,9	99,1	97,9
VI	91,5	90,3	94,8	90,6	95,8	96,8	97,5	98,6
VII	95,0	94,4	94,8	90,6	94,5	95,8	97,2	98,9
VIII	94,8	95,5	94,8	90,9	97,2	96,8	96,8	98,6

Tabelle XIV.

Katalase in Kaninchenorganen.

(Die Zahlen [deren Bedeutung s. Tab. III] sind auf 1 g trockenes Organ berechnet.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Herz	Lunge	Gehirn	Knochenmark	Muskel
Kontr.-Kan. VI	24,96	25,12	9,6	4,64	2,68	6,96	2,30	8,48	2,64
I	23,36	23,68	8,8	3,36	2,30	3,52	2,24	4,16	1,60
IV	22,80	23,44	9,6	1,28	1,92	3,04	2,08	5,28	2,48
V	24,16	24,86	9,44	1,76	2,68	5,76	2,50	8,48	2,50
Im Durchschnitt	23,44	23,99	9,28	2,13	2,30	4,10	2,27	5,97	2,19

Tabelle XV.

Katalase in Meerschweinchenorganen.

(Bedeutung der Zahlen s. Tab. XIV.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Herz	Lunge	Gehirn	Muskel
Gesund. Meerschw.	21,92	21,44	14,08	8,32	12,80	18,40	2,24	9,60
I	18,88	18,40	12,96	4,80	11,52	16,30	2,08	8,80
VI	20,96	20,48	7,44	3,20	9,12	13,12	2,08	9,60
VII	20,64	20,48	13,76	8,80	8,64	17,76	2,24	7,68
VIII	18,08	17,92	13,60	6,96	11,52	12,44	2,08	8,80
Im Durchschnitt .	19,64	19,32	11,94	5,94	10,20	16,15	2,12	8,72
Abnahme um . .	10,4%	9,4%	15,1%	28,6%	20,3%	12,8%	5,3%	9,1%

Tabelle XVI.

Antitrypsin in Kaninchenorganen.

(Die Zahlen [deren Bedeutung s. Tab. V] sind auf 1 g trockenes Organ berechnet.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Muskel
Gesund. Kaninchen	833	833	833	769	833	769	833	769
I	1250	1250	1666	833	1250	833	1250	1250
IV	1666	1666	2500	1250	1666	1250	1666	1666
V	1250	1250	1250	832	1250	769	833	769
Im Durchschnitt .	1368	1368	1805	972	1386	950,6	1249,6	1228,3
Zunahme um . . .	66,3%	66,3%	115,4%	26,3%	66,3%	23,6%	50%	59,7%

Antitrypsin in Meerschweinchenorganen.

Gesund. Meerschw.	833	833	1250	769	833	769	769	769
I	1250	1250	1666	833	1250	769	769	769
VI	1250	1250	1666	833	1250	833	833	833
VII	1250	1250	1250	833	833	769	769	833
VIII	1250	833	1250	769	1250	833	769	833
Im Durchschnitt .	1250	1145,7	1458	817,7	1145,7	801	785	817,7
Zunahme um . . .	50%	37,5%	16,6%	6,3%	37,5%	4,1%	2%	6,3%

Tabelle XVII.

Amylase in Kaninchenorganen.

(Die Zahlen [deren Bedeutung s. Tab. VII] sind auf 1 g trockenes Organ berechnet.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Muskel
Gesund. Kaninchen	312,5	500	312,5	500	312,5	83,3	62,5	125
I	125	312,5	250	312,5	250	83,3	41,6	125
IV	83	250	125	250	125	50	25,0	73,3
V	83	125	83	125	83	50	41,6	62,5
Im Durchschnitt .	97	229,16	152,6	229,16	152,6	61,1	36,06	52,76
Abnahme um . . .	72,1%	54,1%	51,1%	54,1%	51,1%	26,6%	42,3%	57,7%

Amylase in Meerschweinchenorganen.

Gesund. Meerschw.	312,5	312,5	250	500	312,5	250	41,6	125
I	250	250	250	312,5	250	125	41,6	125
VI	250	125	125	250	83,5	62,5	41,6	83
VII	125	125	125	250	125	83	41,6	125
VIII	73	125	125	250	125	83	41,6	125
Im Durchschnitt .	145,7	156,2	156,2	265,6	146,2	88,3	41,6	114,5
Abnahme um . . .	53,3%	50,3%	37,5%	48,6%	53,2%	64,6%	idem	8,4%

Tabelle XVIII.

Diastase in Kaninchenorganen.

(Die Zahlen [deren Bedeutung s. Tab. IX] sind auf 1 g trockenes Organ berechnet.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Muskel
Gesund. Kaninchen	260	280	290	290	270	210	160	210
I	220	260	280	270	230	200	150	210
IV	230	220	250	280	220	200	160	200
V	210	260	230	270	200	180	150	190
Im Durchschnitt .	220	246,6	253,3	273,3	216,6	193,3	153,3	200
Abnahme um . . .	15,3%	11,3%	12,6%	5,7%	19,7%	7,9%	4,1%	5%

Diastase in Meerschweinchenorganen.

Gesund. Meerschw.	290	280	260	260	220	200	190	220
I	240	200	270	230	150	200	170	210
VI	190	240	200	180	200	200	180	200
VII	250	200	260	240	130	190	200	220
VIII	260	230	250	250	190	180	200	200
Im Durchschnitt .	235	217,5	245	225	167,5	192,5	187,5	207,5
Abnahme um . . .	22,4%	22,3%	5,7%	13,4%	23,8%	3,7%	1,3%	5,6%

Tabelle XIX.

Nuclease in Kaninchenorganen.

(Bedeutung der Zahlen s. Tab. XI bei 2 ccm Organextrakt [1 : 50] und 10 ccm 2%ige Nucleinnatriumlösung.)

	Leber	Niere	Milz	Pankreas	Lunge	Herz	Gehirn	Knochenmark	Muskel
Gesund. Kan. .	0,64	0,8	1,18	0,50	0,96	0,47	0,54	1,20	0,40
I	1,07	1,3	1,28	0,68	1,06	0,56	0,57	1,29	0,51
IV	0,95	0,99	1,22	1,09	0,99	0,78	0,97	1,31	0,53
V	0,75	1,1	1,25	1,01	0,96	0,52	0,54	1,32	0,50
Im Durchschnitt	0,92	1,13	1,58	0,92	1,00	0,62	0,69	1,30	0,51
Zunahme um .	43,7%	41,2%	33,8%	84%	4,1%	31,9%	27,9%	8,3%	27,5%

Nuclease in Meerschweinchenorganen.

Gesundes Meerschweinchen .	0,72	0,95	0,63	0,71	0,78	0,50	0,61	—	0,62
I	0,93	1,24	1,15	1,08	1,18	1,08	1,15	—	1,08
VI	0,88	1,19	1,20	0,88	0,99	0,81	0,73	—	0,78
VII	0,92	1,06	1,19	0,95	1,02	0,78	0,68	—	0,73
VIII	0,78	1,16	1,11	1,02	1,08	0,98	1,01	—	0,94
Im Durchschnitt	0,87	1,16	1,16	1,00	1,06	0,91	0,89	—	0,88
Zunahme um .	20,8%	22,1%	84,1%	32,3%	35,8%	82%	45,9%	—	41,9%

Zusammenfassung.

Bei Kaninchen und Meerschweinchen verursachte die Einführung getöteter Tuberkelbacillen eine Abnahme des Fettspaltungsvermögens des Serums und der Organe und eine Steigerung des Antitrypsins und der Nuclease im Serum und hauptsächlich in den Organen.

Die katalytische Energie des Blutes und der Organe war nur bei Meerschweinchen herabgesetzt.

Im Amylase- und Diastasegehalt des Serums und der Organe fand eine geringe Abnahme statt.

Studien über Methylglyoxalbildung.

Von

C. Neuberg und W. Oertel.

(Aus der chemischen Abteilung des Kgl. Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftl. Hochschule, Berlin.)

Die glatte Vergärbarkeit der Brenztraubensäure und ihre verschiedenen physiologischen Umwandlungen sowie die biologische Bedeutung des zu ihr gehörigen Aldehyds, des Methylglyoxals, haben das Interesse für beide Substanzen vom tier- wie pflanzenphysiologischen Standpunkte aus erregt[1]). Insbesondere für den Prozeß der alkoholischen Gärung haben Neuberg und Kerb[2]) dargelegt, daß alle Abbauphasen des Hexosemoleküls, die vor der Brenztraubensäuregärung liegen, im weitesten Sinne nur Hydrolysen und Umlagerungen darstellen, während der wesentliche Vorgang, die Zerreißung der Kohlenstoffkette in C_1- und C_2-Körper, sich in der C_3-Reihe abspielt, wo ihn im Falle der alkoholischen Gärung das Ferment Carboxylase bewirkt. Auch für den Tierkörper sind eine Reihe von Vorgängen bekannt geworden, die ein einigermaßen klares Bild vom Schicksal der 3-Kohlenstoffverbindungen geben.

Sehr wenig ist jedoch über den Mechanismus jener Prozesse erkundet, die in der Natur den Übergang von 6-Kohlenstoffzuckern in die auf dem Ab- und Umbauwege gelegenen 3-Kohlenstoffkörper hervorbringen.

Von diesen Gesichtspunkten aus haben wir zunächst Studien über die Bildung von Methylglyoxal in vitro begonnen.

Im Jahre 1898 hat zuerst G. Pinkus[3]) durch Einwirkung von Natronlauge auf Traubenzucker in Gegenwart von

[1]) Die gesamte Literatur siehe bei C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Monogr. Jena 1913, bei G. Fischer.

[2]) C. Neuberg und Joh. Kerb, diese Zeitschr. **53**, 418, 1913.

[3]) G. Pinkus, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 31, 1898.

Phenylhydrazin Methylglyoxalosazon erhalten. Zwar war Pinkus der Meinung, daß dieses Osazon aus intermediär auftretendem Acetol hervorgehe, allein Nef und A. Wohl[1]) haben dargelegt, daß man direkt das Methylglyoxal als Muttersubstanz des Osazons betrachten muß. Auch beim Destillieren von Traubenzuckerlösungen mit einem schwachen Alkali, z. B. mit Zinkcarbonat, bzw. beim Kochen mit Zinkstaub (bzw. ZnO) und nachträglicher Destillation hierüber gewann W. Loeb[2]) Methylglyoxalosazon liefernde Destillate. Neuerdings haben für solche Destillationsversuche Dakin und Dudley[3]) an Stelle der Zinkverbindungen phosphorsaures Natrium verwendet.

Die Ausbeute an Derivaten des Methylglyoxals ist überall minimal gewesen — außer in den Versuchen von Pinkus. Denn dieser Autor hat zuerst das wichtige Prinzip zur Anwendung gebracht, die Spaltung des Glucosemoleküls in Gegenwart von Phenylhydrazin vorzunehmen, so entstehendes Methylglyoxal direkt abzufangen und niederzuschlagen.

Unter Verwendung dieses Prinzips von Pinkus haben wir nun die Entstehung von Methylglyoxal aus verschiedenen Zuckerarten unter Verwendung solcher Alkalien untersucht, die eher einen Vergleich mit den natürlichen Verhältnissen zulassen als die von Pinkus verwendete Natronlauge. Wir haben schon früher angegeben[4]), daß die schwachen Alkalien, wie Natriumcarbonat, Natriumbicarbonat sowie Dinatriumphosphat, hierzu geeignet sind und geben im folgenden eine Übersicht über die wichtigsten einschlägigen Versuche.

A. Versuche mit Glucose.

1. 9 g Glucose wurden in 500 ccm $^{m}/_{10}$-Sodalösung unter Zugabe von 16,5 ccm Phenylhydrazin gelöst und in einem Rundkolben mit Steigrohr 9 Stunden lang im Wasserbade erhitzt. Dabei beginnt alsbald die Ausscheidung gelber Flocken, die sich mit öliger Substanz am Boden zusammenballen. Nach der an-

[1]) A. Wohl, diese Zeitschr. **5**, 55, 1907.

[2]) W. Loeb, diese Zeitschr. **12**, 78 u. 466, 1908.

[3]) H. D. Dakin und H. W. Dudley, Journ. of Biolog. Chem. **15**, Juliheft 1913.

[4]) C. Neuberg im Handbuch der Biochemie, Ergänzungsband **1913**, S. 572; eingegangen bei der Redaktion d. Handb. d. Biochem. am 27. Februar 1913.

gegebenen Zeit wurde die Prozedur unterbrochen und der gesamte Niederschlag nach völliger Abkühlung abfiltriert, was leicht vonstatten ging. Die Fällung wurde mit kaltem Wasser mehrfach ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Rohausbeute: 10 g.

Das Trocknen der Rohsubstanz ist schon deshalb erforderlich, weil sich die anhaftende Schmiere nur in diesem Zustande in befriedigender Weise entfernen läßt. Zu diesem Zwecke löst man in möglichst wenig wasserfreiem Methylalkohol (auch absoluter Äthylalkohol ist brauchbar) in der Wärme, filtriert und läßt die tiefbraune Lösung bedeckt in der Kälte stehen. Dabei scheiden sich dicke Krusten aus, die nach dem Absaugen gelb sind und durch 2 malige Krystallisation aus siedendem Benzol leicht rein erhalten werden. Die so gewonnene Verbindung bildet derbe hellgelbe Krystalle vom Schmelzpunkte 145° und stellt nach der Analyse reines Methylglyoxalosazon dar.

0,0960 g Substanz: 19,0 ccm N (22°, 758 mm).
0,1206 „ „ : 0,3166 g CO_2, 0,0684 g H_2O.

$CH_3.C:(N.NHC_6H_5).CH:N.NHC_6H_5 = C_{15}H_{16}N_4$.
Ber.: C = 71,43, H = 6,35, N = 22,22 %.
Gef.[1]): C = 71,62, H = 6,30, N = 22,41 %.

2. Ein ganz entsprechender Versuch wurde mit einer Lösung von 9 g Glucose und 16,5 ccm Phenylhydrazin in 500 ccm $^m/_2$-Natriumbicarbonat angestellt. Nach 9 stündiger Erwärmung im Wasserbade und darauf folgender Abkühlung wurde der entstandene Niederschlag auf einem Filter gesammelt und wiederum an der Luft getrocknet. Rohsubstanz: 8 g. Durch die sub 1 erwähnte Behandlung mit Methylalkohol und Benzol wurde auch hier reines Methylglyoxalosazon vom Schmelzpunkte 143° erhalten.

0,1206 g Substanz: 23,8 ccm N (19°, 754 mm).
$C_{15}H_{16}N_4$: Ber.: N = 22,22 %; gef.: N = 22,49 %.

3. Ein Gemisch von 9 g Glucose, 16,5 ccm Phenylhydrazin und 500 ccm $^m/_{10}$-Dinatriumphosphat wurde 9 Stunden im Wasserbade erwärmt. Die Ausbeute an hier sehr wenig verschmierter Substanz belief sich auf 3 g nach dem Trocknen an der Luft. Die weitere Verarbeitung zeigte, daß hier ein Ge-

[1]) Einen zu hohen C-Gehalt, wie ihn Pinkus beobachtete, haben wir nicht gefunden; durch die vorangehende Behandlung mit Holzgeist sind anhaftende Verunreinigungen offenbar entfernt worden.

misch von zwei Substanzen vorlag, was sich durch Aussehen und Verhalten leicht zu erkennen gab. Der erste aus Methylalkohol erhaltene Krystallanschuß löst sich nämlich nur teilweise in heißem Benzol. Die erste Krystallisation aus diesem Lösungsmittel schmilzt bei 160°; nach abermaligem Umkrystallisieren stieg der Schmelzpunkt auf 175° und erreichte durch eine dritte Krystallisation aus Benzol 199°.

Diese Fraktion hatte die Eigenschaften von gewöhnlichem Glucosazon.

Behandelt man dagegen den ersten Krystallanschuß aus der methylalkoholischen Lösung der Rohsubstanz nach dem Absaugen und Trocknen mit nicht zu viel wasserfreiem Aceton, so geht ein beträchtlicher Teil der gelben Krystalle in Lösung. Auf Zusatz des gleichen Volumens Wasser scheidet sich ein gelber amorpher Niederschlag aus, der nochmals mit Aceton aufgenommen wird. Aus der filtrierten Acetonlösung erhält man durch Wasserzusatz abermals eine Fällung, die, aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert, nunmehr leuchtend hellgelbe Krystalle[1]) von Methylglyoxal liefert. Schmelzpunkt 147 bis 148°.

B. Versuche mit Fructose.

Im Sinne der Anschauungen Lobry de Bruyns und Alberda van Ekensteins entsteht bei der Behandlung von Glucoselösungen mit schwachem Alkali stets Fruchtzucker, und dieser ist bekanntlich gegen die verschiedenen Eingriffe viel empfindlicher, also reaktionsfähiger als der Traubenzucker. Daher war zu erwarten, daß Fructose recht leicht Methylglyoxal liefern würde. Das ist tatsächlich der Fall und offenbart sich darin, daß die Abscheidung des Methylglyoxalosazons schneller eintritt.

Die Mengenverhältnisse und die Aufarbeitung waren genau dieselben wie bei den entsprechenden Versuchen mit Traubenzucker, nur wurde die Erwärmungsdauer eben wegen der größeren Reaktionsfähigkeit auf nur 7 Stunden bemessen.

---

[1]) Methylglyoxalosazon krystallisiert aus Alkohol und Benzol scheinbar in verschiedenen Formen. Aus Alkohol erhält man feine, häufig büschelförmig angeordnete Nadeln vom Schmelzpunkt 147 bis 148°, aus Benzol scheiden sich bei langsamer Krystallisation massige harte Gebilde ab, die wie Geldbriefkouverts aussehen und bei 143 bis 144° schmelzen. Durch Vertauschung der Lösungsmittel können beide Krystallformen ineinander übergeführt werden.

4. 9 g Fruchtzucker, 500 ccm $^{m}/_{10}$-Sodalösung sowie 16,5 ccm Phenylhydrazin lieferten bei der gemeinsamen Erwärmung im siedenden Wasserbad innerhalb 7 Stunden 9,7 g lufttrockene Rohsubstanz, aus der durch Behandlung mit Methylalkohol und Benzol reines Methylglyoxalosazon erhalten wurde. Schmelzpunkt 144,5°.

0,1008 g Substanz: 20,0 ccm N (23°, 749 mm).

$C_{15}H_{16}N_4$: Ber. N = 22,22%; gef. N = 22,04%.

5. Aus 9 g Fructose, 16,5 ccm Phenylhydrazin sowie 500 ccm $^{m}/_{2}$-Natriumbicarbonatlösung: 11,4 g Rohsubstanz. Das daraus erhaltene Methylglyoxalosazon schmolz (aus Benzol umkrystallisiert) bei 143°.

0,1183 g Substanz: 23,3 ccm N (18°, 757 mm).

$C_{15}H_{16}N_4$: Ber. N = 22,22%; gef. N = 22,64%.

6. Der Versuch mit 9 g Fruchtzucker, 16,5 ccm Phenylhydrazin und 500 ccm $^{m}/_{10}$-Dinatriumphosphatlösung ergab 4,8 g recht reine Rohsubstanz, die auch hier ein Gemisch zweier Verbindungen darstellte. Die Trennung geschah genau wie sub 3. Das erhaltene Methylglyoxalosazon schmolz nach Krystallisation aus Alkohol bei 147°.

0,0863 g Substanz: 17,1 ccm N (23°, 758 mm).

$C_{15}H_{16}N_4$: Ber. N = 22,22%; gef. N = 22,29%.

Erhitzt man die nach 9 bzw. 7stündigem Erwärmen erhaltenen Filtrate von der Rohsubstanz wiederum im Wasserbade am Steigrohr, so gewinnt man sowohl in den Ansätzen mit Glucose als mit Fruchtzucker eine zweite Krystallisation; allein dieselbe ist meist stark verharzt, so daß ihre Aufarbeitung nicht recht verlohnt. Außerdem mischt sich später bei den Versuchen mit Dinatriumphosphat mehr hochschmelzendes Osazon bei. Wir haben versucht, durch Vornahme der Erwärmung im Wasserstoffstrome die Bildung schmieriger Substanzen hintanzuhalten; jedoch war der Erfolg nur gering.

Die häufig starke Verharzung erschwert natürlich die Isolierung des Methylglyoxalosazons, indem beträchtliche Mengen gerade in der ersten methylalkoholischen Mutterlauge verbleiben und daraus nur bei langem Stehen spärlich auskrystallisieren. Von der Aufarbeitung dieser tief dunklen Mutterlaugen wie auch

der benzolischen Mutterlaugen haben wir abgesehen. Daher läßt sich die wahre Ausbeute an Methylglyoxalosazon nicht genau angeben; im besten Falle erhielten wir bei der angegebenen einfachen Arbeitsweise 3 g aus 9 g Fruchtzucker.

Die Bildung von Methylglyoxalosazon aus Hexosen läßt sich auch bei Körpertemperatur erreichen, wenn man die erwähnte Behandlung mit Alkalien im verschlossenen Gefäß im Brutschrank vor sich gehen läßt; allein das Methylglyoxalosazon entsteht dabei nur langsam und in geringer Ausbeute. Auch beim Kochen in wässerig-alkoholischer Lösung gelangt man zum Methylglyoxalosazon, doch unterbleibt auch hier die Verharzung nur dann, wenn viel Alkohol zugegeben wird und also reichlich Osazon verloren geht.

C. Versuch mit Mannose.

Vorläufig ist nur 1 Versuch mit Natriumcarbonat und d-Mannose möglichst quantitativ durchgeführt. Aus 3 g des Zuckers wurden 0,25 g analysenreines Methylglyoxalosazon vom Schmelzpunkt 143° abgeschieden.

D. Einfache Demonstration der schnellen Bildung von Methylglyoxal aus Hexosen.

Man löst 3 g Krystallsoda in einem Jenenser Kolben in 100 ccm siedendem Wasser und gibt 3,3 ccm Phenylhydrazin sowie 2 g Glucose oder viel besser 2 g Fruchtzucker hinzu. Nach Versenken des Kolbens in ein siedendes Wasserbad hat sich nach etwa 3 bis 5 Minuten ein charakteristischer Farbenumschlag in Orange vollzogen. Nach 5 bis 10 Minuten sind flockige gelbe Abscheidungen von Methylglyoxalosazon im Kolben vorhanden.

Das Methylglyoxal steht zu den zurzeit wichtigsten intermediären Produkten des physiologischen Kohlenhydratumsatzes, zur Brenztraubensäure und zur Milchsäure, in nächster Beziehung. Daher sollen die Versuche über die Bildungsweise dieser Substanz auch auf andere Zuckerarten und auf die Wirkungsweise anderer Agenzien als der vorstehend erwähnten ausgedehnt werden. Das Hauptziel bleibt freilich die Auffindung von Enzymen, die den Übergang von Substanzen der C_6- in die C_3-Reihe vermitteln. Solche biologischen Agenzien

sind z. B. unzweifelhaft im Hefemacerationssaft vorhanden, wo sich ihre Existenz indirekt durch Abtrennung der auf die C_3-Körper wirkenden Carboxylase nachweisen läßt.

Anhang.

Im Zusammenhang mit den vorstehenden experimentellen Daten möchte ich auf einige historische und sachliche Ungenauigkeiten in den Arbeiten einiger anderer Autoren hinweisen, die sich auf ähnlichem Gebiete bewegen.

Im Jahre 1904 hat zuerst J. U. Nef[1]) der Möglichkeit gedacht, daß Methylglyoxal intermediär bei der Umwandlung der Hexosen in Milchsäure aufträte. 1905 hat A. Wohl[2]) eingehend die Frage erörtert, ob Methylglyoxal auch ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung darstelle. Sobald das Methylglyoxal zugänglich geworden war, hatte ich P. Mayer[3]) zu Versuchen über die Vergärbarkeit veranlaßt. P. Mayers Versuche mit lebender Hefe und solche von E. Buchner und J. Meisenheimer[4]) mit Hefepreßsaft sind bekanntlich negativ ausgefallen, und unter dem Einflusse dieser Befunde ist dann die Methylglyoxaltheorie für die Deutung physiologischer Prozesse aufgegeben und von Nef[5]) auch für die Erklärung rein chemischer Vorgänge ausdrücklich zurückgezogen worden.

Sofort bei der Entdeckung der Brenztraubensäuregärung habe ich[6]) auf den Umstand hingewiesen, daß die Umlagerungsprodukte des Methylglyoxals nach Cannizzaro, deren eines ja die Brenztraubensäure ist, eine physiologische Bedeutung besitzen. In zahlreichen Arbeiten haben meine Mitarbeiter und ich diese Verhältnisse betont, und ich habe auch das Methylglyoxal zum Mittelpunkt eines neuen Gärungsschemas[7]) gemacht, das der Auffindung der zuckerfreien Gärung sowie den daran sich knüpfenden Befunden der letzten Jahre Rechnung trägt. Angekündigte Gärversuche[8]) mit Methylglyoxal sind in Rücksicht auf den Vorbehalt A. v. Lebedews[9]) unterblieben.

Das Verhalten des Methylglyoxals und seiner Umwandlungsprodukte nach Cannizzaro zu tierischen Zellen haben in meinem Laboratorium

[1]) J. U. Nef, Annal. **335**, 247, 1904.

[2]) A. Wohl, diese Zeitschr. **5**, 45, 1907.

[3]) P. Mayer, diese Zeitschr. **2**, 435, 1906/1907.

[4]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. **39**, 3201, 1906.

[5]) J. U. Nef, Annal. **357**, 214, 1907.

[6]) C. Neuberg, Sitzung der physiol. Ges. 1910/1911; diese Zeitschr. **31**, 171, 1911.

[7]) C. Neuberg in Oppenheimers Handb. d. Biochem., Ergänzungsband **1913**, S. 581, 582, 609; der Redaktion des Handbuchs zugegangen am 27. Februar 1913.

[8]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **49**, 503, 1913.

[9]) A. v. Lebedew und N. Griaznoff, Ber. **45**, 3268, 1913.

M. Tschernorutzki[1]), P. Mayer[2]) sowie ich selbst[3]) in Angriff genommen. Die zuletzt erwähnte Arbeit ergab, daß tierische Gewebe Methylglyoxal zu Milchsäure hydratisieren können.

Daher entspricht die Darstellung, die H. D. Dakin und H. W. Dudley in mehreren jüngst erschienenen Arbeiten von diesem Gegenstande gaben, keineswegs den tatsächlichen Verhältnissen. Besonders aber möchte ich eine Bemerkung von Dakin und Dudley zurückweisen, die mir durchaus unpassend erscheint. Sie schreiben[4]): „Since the appearance of our first communication on glyoxalase, an undated paper by Neuberg has appeared (Biochem. Zeitschr. **49**, 502, 1913) in which the conversion of methyl glyoxal into lactid acid is described." Die betreffende first communication von Dakin und Dudley liegt nun in Form einer $6^1/_2$ Zeilen langen Anmerkung im Märzheft[5]) des Journ. of Biolog. Chem. vor. Im Monat März erschien aber auch meine Arbeit[6]) in dieser Zeitschrift. Wenn meine Mitteilung „undated" — ohne Eingangsdatum — ist, so dürfte sich Herr Dakin durch einen Blick davon überzeugen, daß ich die Gewohnheit anderer deutscher Redakteure teile, die eigenen Arbeiten nicht zu datieren! Trotzdem ist meine Mitteilung gleichzeitig mit der von Dakin und Dudley erschienen. Ihre Ergebnisse habe ich aber schon Ende Februar in dem mehrfach erwähnten Beitrag zum Handbuch der Biochemie der Redaktion dieses Handbuchs bekannt gegeben, also einen Monat bevor das Märzheft des Journ. of Biolog. Chem. in Europa eintreffen konnte.

Daraus dürfte wohl klar hervorgehen, daß meine Untersuchungen von denen der amerikanischen Autoren durchaus unabhängig sind.

Sachlich ist noch folgendes zu bemerken. Das Enzym, das die Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure bewirkt, ähnelt nach meinen Ausführungen in seinen Eigenschaften und seiner Wirkungsweise der bekannten Aldehydmutase. Durchgreifende Unterschiede von dieser sind nicht offenbar geworden. Es liegt daher bislang keine Veranlassung vor, das Ferment als Vertreter einer neuen Gruppe zu betrachten, wie es Dakin tut. Besonders ist aber der von Dakin gewählte Name „Glyoxalase" höchst unglücklich, da gerade das Glyoxal bisher nicht nachweisbar beeinflußt wird. Zweckmäßiger erscheint daher mein Vorschlag (l. c.), das Enzym den Aldehydasen anzureihen und es vorläufig Ketonaldehydmutase zu benennen, da diese Bezeichnung nichts präjudiziert.

Neuerdings gaben nun Dakin und Dudley[7]) an, aus Milchsäure Methylglyoxal unter dem Einfluß von p-Nitrophenylhydrazin,

[1]) M. Tschernorutzki, diese Zeitschr. **43**, 486, 1912.

[2]) P. Mayer, diese Zeitschr. **40**, 441, 1912; **49**, 486, 1913; **55**, 1, 1913.

[3]) Diese Zeitschr. **49**, 502, 1913; **51**, 484, 1913.

[4]) Journ. of Biolog. Chem. **14**, 557, 1913.

[5]) Journ. of Biolog. Chem. **14**, 157, 1913; Tag der Ausgabe ist nicht angegeben.

[6]) Diese Zeitschr. **49**, 502, 1913.

[7]) Journ. of Biolog. Chem. **15**, 130, 1913.

$C_6H_4(NO_2)-NH.NH_2$, erhalten zu haben. Die durch die Gleichung $CH_3.CHOH.COOH = CH_3.CO.COH + H_2O$ ausgedrückte H — OH-Verschiebung und -Abspaltung nehmen die Autoren auch im lebenden Organismus an und fügen hinzu, daß dem Hydrazin analoge Substanzen mit der Gruppe $-NH.NH_2$ (!) im Arginin und Kreatin vorlägen und in vivo entsprechend tätig seien. Dabei übersehen die Autoren aber, daß Arginin und Kreatin keine Hydrazinabkömmlinge, sondern Guanidin- bzw. Methylguanidinderivate sind und die völlig anders wirkende Gruppe

$$-NH-C(=NH)-NH_2 \quad \text{bzw.} \quad -N(CH_3)-C(=NH)-NH_2$$

aufweisen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß die von Dakin und Dudley[1]) angegebenen Beziehungen der aktiven Milchsäure zum Methylglyoxal und zum Traubenzucker von mir schon vorher dargelegt sind, und zwar vollkommener, indem meine Formulierungen den optischen Verhältnissen[2]) Rechnung tragen, was die amerikanischen Forscher außer acht lassen. Neben den von mir früher angeführten aktiven und inaktiven Formen des Methylglyoxals (8 an Zahl) kann man auch noch die beiden folgenden in Betracht ziehen, die sich von einem in wässeriger Lösung kaum beständigen Keton ableiten, nämlich

$$CH_3.C(OH):C(OH)_2 \quad \text{und} \quad CH_3.\underset{\llcorner O \lrcorner}{C} : C(OH).$$

Man darf sich wohl vorstellen, daß bei den verschiedenen biologischen Vorgängen ungleiche Formen des Methylglyoxals in Reaktion treten.

---

[1]) Journ. of Biolog. Chem., l. c. S. 129.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **51**, 484, 1913. In Übereinstimmung mit den Befunden Embdens und der amerikanischen Autoren habe ich konstatiert, daß die absoluten Mengen von d- und l-Milchsäure schwanken. Während zuerst d, l- und d-Säure gefunden wurde, habe ich später d, l- und l-Säure, neuerdings aber wieder d, l- und d-Säure beobachtet. Eine Intervention von Bakterien, die P. A. Levene und G. M. Meyer (Journ. of Biolog. Chem. **14**, 551, 1913) heranziehen wollen, ist höchst unwahrscheinlich. Denn erstens ist der Zusatz der Antiseptica in meinen Organversuchen reichlich gewesen, d. h. nach Salkowskis viel benutzten Angaben für die antiseptische Autolyse bemessen worden, zweitens ist eine äquivalente Abnahme des Methylglyoxals erwiesen, und drittens ist in den Experimenten mit Organauszügen und Hefemacerationssaft die bakteriologische Kontrolle vorgenommen worden. Erinnern möchte ich an den Befund E. Salkowskis (Zeitschr. f. physiol. Chem. **63**, 237, 1909), daß im Fleischsaft, also gleichfalls in Muskelextrakten, d, l-Milchsäure vorkommt, was auch auf eine Bildung von d- und l-Milchsäure nebeneinander hinweisen könnte. Neuberg.

Autorenverzeichnis.

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XIX. von Hans Sollberger. S. 13.

Baldes, Karl, siehe Embden und Baldes.

Bywaters, H. W. Die Assimilation des im Ei enthaltenen Eiweißes durch den Hühnchenembryo. S. 245.

Christiansen, J. A., siehe Lomholt und Christiansen.

Costantino, A. II. Der durch Formol titrierbare Aminosäurestickstoff in den Blutkörperchen und im Serum des Blutes von hungernden und ernährten Tieren. S. 402.

— III. Die Permeabilität der Blutkörperchen für Aminosäuren. S. 411.

— Methodik der Extraktion von Aminosäuren aus den verschiedenen Bestandteilen des Blutes. S. 419.

Diakow, M. Zur Methode der Verbrennungscalorimetrie und der Elementaranalyse mit Hilfe der calorimetrischen Bombe. S. 116.

Dienes, Ludwig. Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels in der Schwangerschaft und der Lactation. S. 124.

Elias, Herbert. Über die Kohlensäurebildung im überlebenden blutdurchströmten Muskel. S. 153.

Embden, Gustav, und Karl Baldes. Über den Abbau des Phenylalanins im tierischen Organismus. S. 301.

— und Max Oppenheimer. Über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper. II. S. 335.

Fasal, Hugo. Über den Tryptophangehalt normaler und pathologischer Hautgebilde und maligner Tumoren. S. 88.

Fasal, Hugo. Studien über Pigment. S. 393.

Friedmann, E. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XVII. S. 436.

— und C. Maase. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XX. S. 450.

— und W. Türk. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XV. S. 425. XVI. S. 432.

— — Weitere Versuche über den Abbau des Naphthalinkernes im Tierkörper. S. 463.

Gigon, Alfred, und Max Massini. Muskulatur und Glykolyse. S. 189.

Griesbach, W., und S. Oppenheimer. Über Milchsäurebildung im Blute. V. S. 323.

Halle, W., E. Loewenstein und E. Přibram. Bemerkungen über Farbenreaktionen des Triketohydrindenhydrats (Ninhydrin). S. 357.

Heide, R. von der, und W. Klein. Stoff- und Energieumsatz des Schweines bei Wachstum und Mast. S. 195.

Karczag, L., und L. Móczár. Über die Vergärung der Brenztraubensäure durch Bakterien. I. S. 79.

Kauders, Felix. Über den Cholesterin- und Cholesterinestergehalt des Blutes verschiedener Tiere. S. 96.

Kirsche, Arno. Beiträge zur Frage der lipoiden Organhämolysine und ihrer Beeinflussung durch Traubenzuckerfütterung. S. 169.

Klein, W., siehe Heide und Klein.

Kotschneff, Nina. Zur Frage nach der Rolle der Fermente im tierischen Organismus bei Einfüh-

rung getöteter Tuberkelbacillen. S. 481.
Lagermark, L. von. Über die Verbreitung der Ketoreduktase in den Geweben. S. 458.
Lesser, Ernst J. Die Beeinflussung der endozellularen Wirksamkeit der Leberdiastase durch Pankreasexstirpation. I. S. 355.
Lomholt, Svend, und J. A. Christiansen. Bestimmung kleiner Mengen Quecksilber in organischer Substanz. S. 216.
Loewenstein, E., siehe Halle, Loewenstein und Pribram.
Maase, C., siehe Friedmann und Maase.
Massini, Max, siehe Gigon und Massini.
Masslow, M. Über die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus. S. 45.
Mayer, Paul. Fortgesetzte Untersuchungen über das Verhalten der Brenztraubensäure im Tierkörper. III. S. 1.
Mochizuki, Junichi. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XVIII. S. 443. XIX. S. 446.
Móczár, L., siehe Karczag und Móczár.
Neuberg, C., und W. Oertel. Studien über Methylglyoxalbildung. S. 495.
Oppenheimer, Ernst. Zur Frage der Fixation der Digitaliskörper im tierischen Organismus und besonders deren Verhalten zum Blut. S. 134.
Oppenheimer, Max, siehe Embden und Oppenheimer.
Oppenheimer, S., siehe Griesbach und Oppenheimer.
Oertel, W., siehe Neuberg und Oertel.
Pribram, E., siehe Halle, Loewenstein und Pribram.
Renall, Montague H. Über den stickstoffhaltigen Bestandteil des Kephalins. S. 296.
Rewald, B., siehe Wohlgemuth und Rewald.
Rumpf, Friedrich. Über den Einfluß der Lipoide auf die Gerinnung des Blutes. S. 101.
Salkowski, E. Über die Fällung der Purinbasen durch Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn. S. 254.
Saxl, Paul. Über die Störungen im Eiweißstoffwechsel Krebskranker. (Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Rhodanausscheidung.) S. 224.
Schataloff, W., siehe Zaleski und Schataloff.
Schewket, Omer. Über einen einfachen Nachweis der Glucuronsäure im diabetischen Harn. S. 4.
Schirokich, P. Beitrag zur Bedeutung der Pentosen als Energiequelle im tierischen Organismus. S. 370.
Shatkin, W., siehe Zaleski und Shatkin.
Sollberger, Hans, siehe Asher.
Thorsch, Grete. Über die Einwirkung des Alkohols auf die antigenen Gruppen der roten Blutkörperchen. S. 266.
Türk, W. Über β-Naphthalaninhydantoinsäure. S. 477.
— siehe Friedmann und Türk.
Wohlgemuth, J., und B. Rewald. Über das Verhalten von Jodeiweiß im Organismus. S. 7.
Wolter, B. Beiträge zur Kenntnis der Chemie der Krebstumoren. S. 260.
Zaleski, W., und W. Schataloff. Beiträge zur Kenntnis der Eiweißumwandlung in der Hefe. S. 63.
— und W. Shatkin. Untersuchungen über den Eiweißaufbau in den Pflanzen. S. 72.
Zuntz, N. Einfluß chronischer Unterernährung auf den Stoffwechsel. S. 341.

CHEMISTRY LIBRARY

[redacted]

JOURNAL
Does Not Circulate

CHEMISTRY LIBRARY

ALF Collections Vault
3 0000 091 477 160